АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XXIV. ВЫП. 2

МАРТ—АПРЕЛЬ

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1955

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
25 MAY 1955

МИКРОБИОЛОГИЯ

Главный редактор чл.-корр. АН СССР А. А. Имшенецкий

Секретарь Я. И. Раутенштейн

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Н. Д. Иерусалимский, Н. А. Красильников,
Е. Н. Мишустин, К. И. Рудаков, М. В. Федоров,
В. Н. Шапошников

*ПО ВСЕМ ВОПРОСАМ ПОДПИСКИ НА ЖУРНАЛ «МИКРОБИОЛОГИЯ»
ОБРАЩАТЬСЯ ПО АДРЕСУ: МОСКВА, УЛ. КУЙБЫШЕВА, 8.
КОНТОРА «АКАДЕМКНИГА»*

Рукописи направлять по адресу:

Москва Б-64, Подсосенский пер., 21, Издательство Академии наук СССР,
Редакция журнала «Микробиология»

ЗАДАЧИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ В СВЕТЕ РЕШЕНИЙ ЯНВАРСКОГО ПЛЕНУМА ЦК КПСС «ОБ УВЕЛИЧЕНИИ ПРОИЗВОДСТВА ПРОДУКТОВ ЖИВОТНОВОДСТВА»

С. Н. Муромцев

Январский Пленум Центрального Комитета Коммунистической партии Советского Союза принял развернутую программу дальнейшего мощного подъема животноводства в нашей стране с тем, чтобы в ближайшие пять-шесть лет увеличить производство основных продуктов животноводства в два — два с лишним раза.

Решающим условием подъема животноводства является увеличение производства зерна. Пленум Центрального Комитета КПСС поставил как важнейшую народнохозяйственную задачу — обеспечить на базе всемерного и преимущественного развития тяжелой индустрии валовой сбор зерна в стране к 1960 г. в размере не менее 10 млрд. пудов в год. Это позволит полностью удовлетворить потребности населения в хлебе, создать мощные резервы зерна, расширить экспорт и выделить для животноводства более 4 млрд. пудов зерна.

Для решения такой задачи необходимо прежде всего повысить урожайность на всех посевных площадях.

Наиболее же доступным и быстрым источником увеличения производства зерна является освоение целинных и залежных земель. Уже в первый — 1954 год освоения этих земель страна получила дополнительно сотни миллионов пудов зерна. По решению ЦК КПСС и Совета Министров СССР в 1956 г. должно быть поднято под посевы зерновых не менее 28—30 млн. гектаров новых земель.

Ведущее значение в деле обеспечения скота достаточным количеством концентрированных и сочных кормов, как указывается в постановлении Пленума ЦК КПСС, должно принадлежать кукурузе. Опыт возделывания кукурузы за последние годы и особенно в 1954 г. показал, что при должной обработке почвы и посевов высокие урожаи кукурузы можно получить почти во всех районах нашей страны, где выращиваются другие зерновые культуры. Посевные площади под кукурузой намечено довести к 1960 г. не менее чем до 28 млн. гектаров.

Важным резервом увеличения сочных кормов является значительное расширение производства картофеля на кормовые цели, а также расширение посевов и повышение урожайности корнеплодов, кормовой капусты, люпина, бахчевых культур. Пленум ЦК КПСС указывает далее на необходимость улучшения состояния природных сенокосов и поднятия их урожайности в два-три раза. Выполнение этих и других намеченных Пленумом ЦК КПСС мероприятий позволит создать в колхозах и совхозах прочную кормовую базу и тем обеспечить необходимый подъем животноводства.

Постановление январского Пленума ЦК КПСС «Об увеличении производства продуктов животноводства», направленное на дальнейшее поднятие благосостояния населения нашей страны, встретило единодушное одобрение всего советского народа. С огромным воодушевлением включились в работу по выполнению этих решений колхозники, рабочие и спе-

циалисты МТС и совхозов, ученые. Новые и ответственные задачи встали сейчас и перед работающими в области сельскохозяйственной микробиологии.

В комплексе агротехнических приемов повышения урожайности сельскохозяйственных культур важное значение имеет увеличение производства всех видов удобрений и их рациональное использование. За последние годы, наряду с внесением органических и минеральных удобрений, значительно возросло использование бактериальных удобрений. Если в 1954 г. бактериальные препараты (азотобактерин, фосфоробактерин, нитрагин) были применены на площади свыше 5 млн. гектаров, то в 1955 г. их производство намечено довести до 20 млн. гектарных порций, а к 1958 г. до 100 млн. гектарных порций в год.

До сравнительно недавнего времени бактериальные удобрения в большой степени отождествлялись, если не в науке, то в практике, с химическими удобрениями. Не уделялось поэтому должного внимания изучению и созданию условий, необходимых для приживаемости и развития вносимых микроорганизмов. Именно с этим, в первую очередь, связаны непостоянные результаты и нередко малая эффективность бактериальных удобрений. Совершенно ясно, например, что подзолистые почвы потому биологически мало активны, что они бедны органическим веществом. Для того чтобы на подзолистых почвах внесенные полезные почвенные микроорганизмы прижились и хорошо размножались, надо обязательно вносить органические удобрения. Микробам, входящим в состав применяемых бактериальных препаратов, также необходимы: фосфор, калий, кальций и другие минеральные макро- и микроэлементы. Для их жизнедеятельности требуются определенные температуры, реакция среды, влажность и воздух. Словом, для хорошей приживаемости и активной жизнедеятельности вносимых в почву полезных микробов нужны те же приемы агротехники, органические и минеральные удобрения, которые в практике применяются для получения высоких урожаев сельскохозяйственных культур. Только при наличии этих условий почвенные микроорганизмы способны, в свою очередь, дополнительно снабжать растения азотом из воздуха, переводить в почве соединения фосфора, калия, серы и других элементов из недоступных для растения форм в усвояемые и тем самым повышать плодородие почвы.

При плохой же агротехнике, при неблагоприятных атмосферных условиях применение бактериальных препаратов оказывается мало эффективным или и вовсе бесполезным.

За последние четыре года Министерством сельского хозяйства СССР и Всесоюзным институтом сельскохозяйственной микробиологии были обобщены и проанализированы материалы по эффективности азотобактерина, фосфоробактерина и нитрагина в различных почвенно-климатических условиях и при разной агротехнике. Вот некоторые данные и основные выводы из этих материалов. Средние прибавки урожая от внесения азотобактерина (в несколько округленных цифрах) таковы: озимой пшеницы — 1,5 ц/га, яровой — около 2 ц/га, кукурузы (початков) — свыше 4 ц/га, овса и ячменя — 2 ц/га, картофеля и сахарной свеклы — свыше 20 ц/га, капусты — около 40 ц/га. Хорошее действие азотобактерин оказал и при внесении под хлопчатник в условиях орошаемого земледелия: прибавка урожая составила от 3 до 4 ц хлопка-сырца на гектар. Менее постоянный эффект получен от внесения азотобактерина на черноземных почвах, но это чаще всего связано с засухой. При благоприятных атмосферных условиях урожай пшеницы, сахарной свеклы и бахчевых культур на черноземных почвах при внесении азотобактерина также повышается. Вообще азотобактерин оказывает должный эффект только на окультуренных полевых, огородных, парниковых, поливных почвах, хорошо обеспеченных органическим веществом и фосфорно-калийными удобрениями.

Получивший недавно широкое применение в черноземной полосе фосфоробактерин (Р. А. Менкина) оказался особенно эффективным в зонах, обеспеченных осадками, или при искусственном орошении. Но даже и при неблагоприятных атмосферных условиях 1952—1953 гг. в Сибири средняя прибавка урожая яровой пшеницы по пласту составила в среднем 2 ц с гектара. Внесение фосфоробактерина повышает урожай и других культур: кукурузы, проса, ячменя, картофеля, капусты, помидоров. Наибольший эффект на урожай озимой пшеницы фосфоробактерин оказывает по парам, т. е. в условиях достаточного количества азота и влаги. Под яровые культуры (пшеницу и др.) фосфоробактерин наиболее целесообразно вносить по пласту и обороту пласта; хороший эффект дает внесение его под озимые и яровые на орошаемых землях. На подзолистых почвах применение фосфоробактерина необходимо сочетать с внесением органических и минеральных удобрений, а на кислых почвах — с известкованием. Какое это имеет значение — видно из следующего. В условиях нечерноземной полосы средняя прибавка урожая озимой пшеницы от фосфоробактерина без внесения навоза не превышает 1 ц на гектар, т. е. практически применение препарата оказывается не эффективным; по навозному же фону урожай выше на 2 и более центнера с гектара. Примерно такие же результаты получены и по всем другим культурам. Имеются данные, что одновременное внесение соединений бора повышает эффективность фосфоробактерина, а молибден и бор усиливают азотфиксирующую активность азотобактера.

Широкое применение фосфоробактерин должен получить на целинных и залежных землях, богатых органическим веществом и в частности органическими соединениями фосфора. Результаты испытаний и применения фосфоробактерина на целинных землях еще окончательно не подведены. Имеющиеся данные по применению фосфоробактерина в колхозах и совхозах Кустанайской области показывают, что, фосфоробактерин повышает урожайность яровой пшеницы и проса на целинных, залежных и старопахотных землях от 1,5 до 3 ц с гектара.

По имеющимся данным за 1951, 1952, 1953 гг., средняя прибавка от внесения нитрагина составила с 1 гектара (в несколько округленных цифрах) по зерну: люпина — 3 ц/га, вики — около $1^1/_2$ ц, гороха — 2; по зеленой массе: люпина свыше 45 ц, вики — около 10, клевера — 7 ц/га. И здесь по мере окультивирования почвы эффективность нитрагина также возрастает; в частности, на кислых подзолистых почвах известкование и фосфорно-калийные удобрения повышают активность клубеньковых бактерий.

С каждым годом все большее внимание привлекает комплексный бактериальный препарат АМБ, предложенный Н. М. Лазаревым, представляющий собой известкованный кислый низинный торф, в котором размножена микрофлора плодородной почвы. В состав этого бактериального препарата входят микроорганизмы, разлагающие клетчатку и белки, водонерастворимые органические соединения фосфора и даже микробы, фиксирующие атмосферный азот. Это удобрение широко применяется в колхозах и совхозах Ленинградской области под овощные культуры следующим образом. В парники закладывается произвесткованный торф, в который вносится маточная культура АМБ. Выращенная в таком парнике рассада капусты имеет настолько сильно развитую корневую систему, что вынимается из парника с большим комком торфа, по размерам приближающимся к торфоперегнойным горшочкам. При высадке в открытый грунт рассада хорошо приживается, меньше поражается черной ножкой и другими болезнями, дает более высокий и ранний урожай. Например, в совхозе «Ударник» Ленинградской области урожай капусты, рассада которой была выращена на торфоперегнойной массе с удобрением АМБ, составил 462 ц/га, а на той же массе без удобрения АМБ,—398 ц/га. Прибавку в 44 ц/га капусты получил совхоз «Пригородный» той же обла-

сти; при этом сбор ранней капусты был проведен на 7—8 дней раньше, чем с участка, куда удобрение АМБ не вносилось. Добавление удобрения АМБ в торфоперегнойные горшочки позволяет получать повышенный и более ранний урожай не только капусты, но и других овощных культур (огурцов, томатов). АМБ можно вносить и под полевые культуры из расчета 250—300 кг — под культиватор или борону при предпосевной обработке почвы.

Представленные краткие данные о результатах применения бактериальных препаратов и об условиях их эффективного действия дают все основания к тому, чтобы рекомендовать значительно расширить их применение во всех зонах страны, под все сельскохозяйственные культуры и в первую очередь — под важнейшие из них — озимую пшеницу и кукурузу, особенно в новых зонах ее возделывания. Вместе с тем необходимо развернуть самое интенсивное и углубленное изучение условий, обеспечивающих максимальное развитие и наиболее активную жизнедеятельность вносимых в почву почвенных микробов. Только вскрытие этих условий позволить поставить на службу земледелия мощную биохимическую деятельность полезных почвенных микроорганизмов.

Основоположники научного почвоведения В. В. Докучаев, П. А. Костычев, В. Р. Вильямс неоднократно указывали, что плодородие почвы неотделимо от жизнедеятельности почвенных микроорганизмов. Развивая биологическую теорию почвенного питания растений, Т. Д. Лысенко подчеркивает, что центральной проблемой почвенной микробиологии является повышение плодородия почвы путем усиления жизнедеятельности микробов, усваивающих азот из воздуха и переводящих недоступные растениям неорганические соединения почвы в усвояемые формы.

Микробиологам давно уже были известны факты, убедительно опровергавшие так называемую теорию выноса, согласно которой в почву необходимо возвращать в виде удобрений столько же питательных веществ, сколько выносится с поля при уборке урожая в виде семян и зеленой массы. Известно, например, что урожай пшеницы в 30 ц с гектара равняется в пересчете на азот 112 кг азота. Известно также, что при благоприятных условиях азотусваивающие почвенные микробы в черном пару, а клубеньковые бактерии под бобовыми могут накапливать в одном гектаре почвы несколько сот килограммов азота. С этой стороны показателен следующий опыт, проведенный на Экспериментальной базе ВАСХНИЛ «Горки Ленинские». В 1953 г. с удобренной органо-минеральной смесью делянки был получен урожай пшеницы в 28 ц с гектара, а с неудобренной — 18 ц. Кроме того, с этой же удобренной делянки было собрано, в пересчете на гектар, 52 ц чистого клевера, а с неудобренной делянки — 33 ц, причем с большой примесью хвоща и конского щавеля. В данном опыте на удобренную делянку было внесено всего 1,8 т перегноя 70%-ной влажности, т. е., в пересчете на сухое вещество, 6 ц органического удобрения. Прибавка же урожая составила 10 ц одного только сухого зерна да еще 19 ц чистого сухого клеверного сена, не считая соломы и половы. Такая прибавка урожая за счет азота во внесенных 6 ц перегноя, конечно, не могла получиться. Высокий урожай здесь был получен потому, что основным элементом пищи — азотом — растения были обеспечены в результате активной жизнедеятельности микробов, усваивающих атмосферный азот. Результаты этого опыта и многих других аналогичных опытов, заложенных по рекомендации ВАСХНИЛ в сотнях колхозов Московской, Горьковской, Арзамасской и других областей, говорят о том, что вносимые в малых дозах смеси органических и минеральных удобрений являются не столько источниками пищи для растений, сколько затравкой, которая активизирует в почве микробиологические процессы. Задача микробиологов — уточнить механизм эффективного действия малых доз органических удобрений

Необходимо шире организовать испытание выделенных В. Г. Александровым и Т. П. Заком так называемых силикатных бактерий. Полевых опытов по изучению влияния этих бактерий на урожайность сельскохозяйственных культур еще слишком мало, чтобы делать какие-либо выводы. В самое последнее время выделены микробы, разлагающие фосфориты и апатиты. Известно, что растения не могут извлекать необходимый им фосфор непосредственно из апатита и фосфоритной муки. Поэтому последние перерабатываются на химических заводах в суперфосфат. В результате обработки фосфорита серной кислотой в нем почти в два раза снижается содержание P_2O_5. Кроме того, огромные залежи так называемых бедных фосфоритов (с содержанием P_2O_2 14—26%) вообще не пригодны для переработки в суперфосфат сернокислотным способом. Изучение почвенных микроорганизмов, усваивающих фосфор из фосфорита и даже апатита, имеет большое научное и практическое значение.

Следует значительно усилить работы по повышению при помощи бактериальных препаратов удобрительной ценности органических удобрений. Для зоны дерново-подзолистых почв из органических удобрений особое значение, конечно, имеет торф, огромные залежи которого имеются в сущности в любом районе этой зоны. И. И. Самойловым с сотрудниками проводятся опыты по повышению удобрительной ценности торфо-фосфоритной смеси путем внесения азотобактерина и культур бактерий, расщепляющих трехкальциевый фосфат. Главной целью этих опытов является повышение усвояемости фосфора из фосфоритной муки и апатитов. Наибольшего эффекта, по нашему мнению, здесь надо ожидать от применения комплекса микроорганизмов, входящих в состав бактериального удобрения АМБ. Этот комплекс почвенных микроорганизмов уже длительное время размножается на известкованном торфе; входящие в его состав микроорганизмы обладают активной способностью перерабатывать органические вещества торфа. При всех условиях эти опыты ни в какой степени не должны влиять на ослабление внимания к заготовке торфонавозных компостов, к использованию торфа, свежеполитого навозной жижей, к использованию торфа в качестве подстилки.

В связи с указанием Пленума ЦК КПСС о необходимости продолжать насаждение защитных лесных полос, надо оживить работы, проводимые Всесоюзным научно-исследовательским институтом сельскохозяйственной микробиологии ВАСХНИЛ (Я. П. Худяков, Ю. М. Вознякова, Ф. Ю. Гельцер), Институтом микробиологии АН СССР (Е. М. Мишустин), а также и другими научно-исследовательскими учреждениями по микотрофному питанию растений и усовершенствованию приемов массового производства и внесения микоризных грибов под главные лесные породы: дуб и сосну.

За последние годы советские микробиологи провели большие исследования по дальнейшему совершенствованию массового фабричного производства бактериальных препаратов, по повышению их качества и по разработке более эффективных приемов их применения.

Всесоюзный институт сельскохозяйственной микробиологии совместно с Институтом микробиологии им. Я. Ф. Гамалея Академии медицинских наук и работниками завода бактериальных удобрений разработал технологию фабричного изготовления жидкого фосфоробактерина. Совместно с Научно-исследовательским институтом химического машиностроения и заводом бактериальных удобрений разработан способ получения сухого фосфоробактерина; разработаны и проверены в производственных условиях способы глубинного выращивания азотобактера и клубеньковых бактерий; проведены исследования по получению сухого азотобактерина и нитрагина. Освоение способов фабричного изготовления больших количеств концентрированных и высушенных бактериальных препаратов позволит дать практике легко транспортируемые, долго хранимые бактериальные удобрения и вместе с тем значительно повысить вносимые дозы

Постоянной заботой микробиологов должно быть сохранение и повышение активности производственных культур, используемых для изготовления бактериальных препаратов. Искусственное внесение их может дать эффект лишь в том случае, если производственные культуры будут не менее, а более активными в сравнении с такими же микробами, имеющимися в данной окультуренной почве. Усилия исследователей надо направить на то, чтобы создать такие расы и виды полезных почвенных микроорганизмов, которые обладали бы наибольшей активностью связывания атмосферного азота, в наиболее короткий срок разлагали бы соломистые остатки в почве и т. д. Нужны расы и виды микроорганизмов, которые проявляли бы свою специфическую физиологическую деятельность как в условиях пониженных температур, так и при более высоких температурах, с меньшим или большим содержанием влаги в почве, и притом в разных почвенно-климатических зонах. Ведь даже зимой жизнедеятельность микроорганизмов в почве не прекращается вовсе.

Практика издавна располагает сортами сельскохозяйственных растений, приспособленных к различным почвенно-климатическим условиям. Природа несравнимо, конечно, богаче устойчивыми к самым разнообразным невзгодам растениями. Всем этим видам и сортам растений соответствует и специфическая для данных почвенно-климатических условий и для данного биоценоза почвенная микрофлора. Можно не сомневаться, что задачу получения более активных, более жизнестойких рас и видов почвенных микроорганизмов путем адаптации к нужным условиям решать не труднее, а легче, чем в растениеводстве, так как природа одноклеточных организмов более доступна переделке. Из медицинской и технической микробиологии можно было бы привести сколько угодно примеров создания рас микроорганизмов, как более устойчивых к различного рода естественным и искусственным воздействиям: физическим (температура, свет), химическим (антисептики), биологическим (антибиотики), так и с повышенной биохимической активностью и способных ассимилировать новые, необычные для них ранее, источники питания.

С другой стороны, необходимо изыскивать и шире внедрять в практику местные, наиболее активные штаммы полезных почвенных микробов. Нельзя и ожидать, чтобы активный штамм, например, азотобактера, выделенный в районе Ташкента, хорошо прижился в районах Сибири или в Прибалтийских республиках. Наши заводы уже начали выпускать азотобактерин, приспособленный к отдельным почвенно-климатическим зонам страны: для северо-востока, Белоруссии, Украины, Средней Азии, Закавказья, районов поливного земледелия. Проводимые в этом направлении работы заслуживают самого большого внимания. В процессе проведения этих исследований выяснилось, что местные штаммы микроорганизмов лучше всего отбирать с наиболее урожайных участков, и притом из-под наиболее развитых, мощных растений. Подбор активных местных штаммов, в частности клубеньковых бактерий, Г. В. Лопатина рекомендует вести с учетом не только вида растений, но даже и сорта. Для получения местных штаммов могут быть использованы и бактериальные питомники, предложенные Ф. Ю. Гельцер.

Кроме всестороннего изучения азотобактера, внимание почвенных микробиологов должно быть направлено и на углубленное изучение других свободноживущих азотфиксаторов, играющих важную роль в азотном балансе ряда почв.

Наряду с примером направленной адаптации и поисками новых, более активных рас в природе, работники в области почвенной микробиологии должны шире использовать и другие способы, разработанные в технической микробиологии. Следует сказать о воздействии на микробов лучистой энергией и некоторыми ядовитыми веществами. Таким путем удалось получить расы грибов, дающие очень высокие выходы антибиотиков; расы, образующие ценные органические кислоты и т. д.

Эти данные говорят о том, что при умелом подходе можно с пользой для практики овладеть и сильнодействующими факторами. Можно и нужно на основе мичуринского материалистического понимания наследственности и ее изменчивости вскрывать закономерности действия на микроорганизмы и сильнодействующих факторов, научиться управлять также и этими средствами для решения практически нужных задач.

Необходимо продолжать изучение влияния совместного внесения бактериальных препаратов с органическими удобрениями и органо-минеральными смесями, комплексных бактериальных препаратов, различных сроков их внесения до посева, эффективности бактериальных подкормок и других вопросов, непосредственно связанных с дальнейшим совершенствованием приемов применения бактериальных препаратов. Вместе с тем необходимо развернуть систематическое, углубленное изучение более общих проблем почвенной микробиологии, из которых, по нашему мнению, главное внимание следует уделить следующим: а) изучению микрофлоры целинных и залежных земель при различных системах их обработки и под различными культурами; б) изучению микробиологических процессов при обработке почвы по системе Т. С. Мальцева в различных почвенно-климатических условиях; в) изучению влияния различного состава органо-минеральных удобрений на развитие полезных почвенных микроорганизмов в ризосфере различных сельскохозяйственных растений; г) глубокому изучению с применением наиболее совершенных методов исследования биохимической стороны микробиологических процессов в почве и, в первую очередь, раскрытию биохимизма усвоения из воздуха азота, а из недоступных растениям минеральных соединений (фосфоритной муки, апатитов, алюмосиликатов) — фосфора и калия.

* * *

Январский Пленум ЦК КПСС постановил значительно увеличить производство силосованных кормов. Производство силоса намечено довести в 1960 г. до 176 млн. т вместо 32 млн. т в 1953 г., т. е. больше чем в пять с половиной раз. В связи с этим необходимо, прежде всего, принять все меры к наиболее широкому внедрению новых проверенных биологических способов обработки кормов. В колхозах и совхозах Ленинградской, Кировской, Ярославской областей, в Краснодарском и Приморском краях, в Эстонской и Латвийской ССР проверен и дал хорошие результаты предложенный М. М. Макаровой и А. А. Голиковой улучшенный способ силосования кормов с применением заквасок из чистых культур молочнокислых бактерий и в смеси с дрожжами. М. М. Макаровой и и А. С. Махаловой разработан также способ приготовления ацидофильного силоса из запаренного картофеля в смеси с зелеными кормами. Такой комбинированный силос следует широко использовать, в первую очередь — в свиноводческих хозяйствах.

В настоящее время проводятся работы по отбору для силосования местных культур молочнокислых бактерий по принципу эколого-географического происхождения и применительно к отдельным кормовым культурам. В Узбекской и Казахской ССР уже применяются местные культуры молочнокислых бактерий. Они оказываются лучше приспособленными к данной зеленой массе и проявляют более сильное антагонистическое действие к местной естественной микрофлоре. Особое внимание следует уделить подбору наиболее активных местных культур для силосования самой лучшей из силосных культур — кукурузе, в связи с продвижением ее в различные почвенно-климатические зоны. Необходимо шире внедрять в практику имеющиеся методы силосования грубых кормов: метод, предложенный М. Л. Полянским, а также метод В. Г. Лазарева, с прибавлением к нарезанной пшеничной соломе простокваши, приготовленной на молочнокислых бактериях. Кроме того, необходимо усилить

разработку новых способов силосования грубых кормов (соломы, камыша, осокового сена и др.).

Серьезное внимание должно быть уделено внедрению в практику уже известных микробиологических методов повышения содержания белков, витаминов и других ценных веществ в кормах (дрожжевание) и в кормовых препаратах. Наряду с этим необходимо расширить исследования по выведению высокоурожайных и богатых белками и витаминами рас кормовых дрожжей, по получению высокоактивных препаратов рибофлавина и других витаминов, необходимых для выращивания молодняка и для птицеводства, в частности — с использованием комбинированных заквасок из культур молочнокислых бактерий и дрожжей. Заслуживают внимания данные о полезном действии скармливания животным сухой микробной массы азотобактера (А. Р. Миненков). Современные технические возможности массового размножения микробных клеток на малоценных субстратах позволяют получить дешевый дополнительный источник ценных питательных веществ (витаминов, белковых веществ и т. д.).

В. В. Леонович, М. П. Бибердиева, Т. Я. Сергеева провели большую работу по изучению и внедрению в животноводческую практику ацидофилина, приготовленного из культур молочнокислых бактерий, выделенных из кишечника животных. Необходимо шире пропагандировать использование этого полезного препарата. Применение ацидофилина уменьшает заболеваемость молодняка кишечными инфекциями, снижает падеж животных, способствует увеличению привесов у молодняка сельскохозяйственных животных. Антибиотики не только являются высокоэффективным лечебным средством при многих инфекционных заболеваниях животных, они нашли теперь новое применение в животноводстве — в качестве стимуляторов роста. Оказалось, что добавление в корм небольших доз антибиотиков (от 2 до 15 г на 1 т корма) повышает привес у цыплят, индюшат и поросят на 10—12% и больше.

Так, опытами, проведенными под руководством А. Х. Саркисова в колхозах, совхозах и птицефабриках Московской, Куйбышевской и Запорожской областей свыше чем на ста тысячах цыплят, установлено, что прибавление в корм некоторых антибиотиков (пенициллин, биомицин) обеспечило сохранение свыше 90% цыплят и дало дополнительный привес на 10—20% в сравнении с контрольной группой. Добавление антибиотиков в корм поросятам (опыт был поставлен в колхозах Мелитопольского района) увеличило привес у поросят, по сравнению с контрольными поросятами того же опороса, на 20—40%. Столь же эффективные результаты были получены и в опытах, проведенных под руководством З. В. Ермольевой на Кунцевской птицефабрике. Опубликованы наблюдения о благоприятном действии небольших доз антибиотиков в корме и для других видов сельскохозяйственных животных, пушных зверей и даже рыб. Скармливание антибиотиков курам повышает их яйценоскость.

Приведенные материалы о результатах применения антибиотиков в животноводстве и птицеводстве говорят о большой практической значимости этого научного достижения. Необходимо наряду с широким использованием в колхозах и совхозах известных антибиотиков значительно интенсифицировать исследования по изысканию новых, более эффективных антибиотических препаратов и всестороннему изучению их.

Таковы вкратце основные задачи, стоящие перед сельскохозяйственной микробиологией по выполнению решений январского Пленума ЦК КПСС «Об увеличении производства продуктов животноводства». Можно не сомневаться, что научные работники, работающие в области сельскохозяйственной микробиологии, используя и развивая теоретические положения мичуринской агробиологии, в тесном сотрудничестве с передовиками колхозно-совхозного производства, внесут крупный вклад в осуществление этих решений.

Получено 2.II.1955 г.

ВЛИЯНИЕ РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ СУЛЬФГИДРИЛЬНЫХ ГРУПП В ДРОЖЖЕВЫХ ОРГАНИЗМАХ

Р. Д. Гальцова

Высокореактивные содержащие серу соединения, входящие в состав белковых молекул, придают белкам ряд специфических свойств как химического, так и биологического характера. Многие энзимы белковой природы обязаны своей активностью этим соединениям. По литературным данным [6], глютатион принимает участие в реакциях транспептидации при белково-аминокислотном метаболизме.

Дисульфидные связи, соединяя пептидные цепи в молекуле белка, тем самым закрепляют их пространственное расположение.

Вместе с тем содержащие серу группировки принадлежат к весьма уязвимым участкам белковой молекулы. Разрыв дисульфидных связей обычно ведет к денатурации белка.

Под влиянием ионизирующих излучений эти весьма лабильные части белковой молекулы быстро реагируют на данное воздействие, что обычно и приводит к изменению белка. Известно, что облучение определенными дозами рентгеновских лучей вызывает денатурацию белковой молекулы [4, 5].

Имеются основания полагать, что под действием рентгеновских лучей в первую очередь разрываются наиболее уязвимые звенья белковой молекулы, к каким относятся и дисульфидные связи; при этом освобождаются активные группы — SH, обладающие большой реактивной способностью. Кроме того, ионизирующие излучения влияют на конфигурацию белковой молекулы; под их действием происходит растягивание молекулы и появление в свободном виде скрытых до того сульфгидрильных групп, которые становятся поэтому более реактивными, чем они были в нативном белке.

В литературе встречаются также указания [3], что многие энзимы, особенно энзимы, содержащие сульфгидрильные группы, весьма чувствительны к ионизирующим излучениям; их активность под влиянием облучения заметно понижается и только при добавлении таких соединений, как глютатион, вновь может восстанавливаться.

Целью наших исследований являлось выяснение влияния рентгеновского облучения на содержание свободных SH-групп в живом протопласте.

В качестве объекта были использованы дрожжевые организмы. Белок дрожжей по сравнению с другими белками относительно богат соединениями с SH-группами; глютатион, как известно, был впервые выделен из дрожжей.

Известно также, что ферменты, способствующие протеолизу белков дрожжей, принадлежат к типу папаиназ, которые активируются рядом веществ, в том числе и содержащими SH-группы [1, 2].

Для определения сульфгидрильных групп нами была использована методика Фузита и Нумдта, переработанная и уточненная Проскуряковым [3]. По этой методике, кроме SH-групп, определяются и другие иодоредуцирующие вещества, но вследствие присутствия таких веществ в дрожжах в ничтожных количествах они не мешают определению SH-групп.

Полученные данные по сульфгидрильным группам условно выражают в миллилитрах 0,001 *N* раствора иодноватокислого калия в пересчете на 1 г сухого вещества. Полученные величины могут быть перечислены на глютатион и выражены в миллиграмм-процентах, так как известно, что 1 мл 0,001 *N* иода эквивалентен 0,301 мг глютатиона.

Методика

Один грамм прессованных дрожжей растирался в маленькой фарфоровой ступке с небольшим количеством песка и 2 мл воды в течение 5 минут, затем прибавлялись 4 мл 5%-ной метафосфорной кислоты и 4 мл воды. Смесь выдерживалась в течение 30 минут, затем фильтровалась, и из фильтрата отбиралась проба в 2 мл; к пробе прибавлялось 1—1,5 мг иодистого калия, 5—10 капель 1%-ного раствора крахмала, приготовленного в насыщенном растворе хлористого натрия, и производилось титрование из микробюретки 0,001 *N* раствором иодноватокислого калия.

В первую очередь следовало выяснить непосредственное влияние облучения на накопление свободных сульфгидрильных групп в дрожжах. Для этой цели двухсуточная культура дрожжей Saccharomycodes ludwigii на сусло-агаре снималась с питательной среды, промывалась на фильтре прокипяченной водопроводной водой и отпрессовывалась. Определенное количество таких отпрессованных дрожжей подвергалось облучению. Условия облучения были следующие: трубка типа Т, без фильтра, 160 киловольт, 5 миллиампер, расстояние от анода 14—15 см; мощность 800 r в минуту. В первой серии дрожжи получали постоянно одну и ту же дозу, а именно 60 000 r. Дрожжи затем обрабатывались, как указывалось выше, и свободные SH-группы оттитровывались иодатом.

Все перечисленные величины, как и в последующих опытах, были перечислены на 1 г сухого вещества, и результаты сведены в табл. 1.

Таблица 1

Влияние рентгеновского облучения (60 000 r) на количество свободных SH-групп в дрожжах (на 1 г сухого вещества)

Контрольные культуры		Облученные культуры	
SH в пересчете на глютатион в мг%	0,001 *N* раствор KJO_3 в мл	SH в пересчете на глютатион в мг%	0,001 *N* раствор KJO_3 в мл
128	4,17	173	5,62
128	4,17	186	6,00
128	4,17	173	5,62
128	4,17	173	5,62
134	4,38	189	6,15
130	4,23	177	5,77

Как видно из таблицы, облучение вызывает накопление свободных SH-групп, о чем свидетельствует значительная разница в количестве раствора иодноватокислого калия, пошедшего на титрование в контроле и в опыте. В случае облучения это количество значительно больше, чем в контроле.

Представляло интерес выяснить, при каких дозах рентгеновских лучей начинает обнаруживаться увеличение количества свободных сульфгидрильных групп. Необходимо было также установить, существует ли зависимость между количеством этих групп и величиной дозы. Для этой цели были поставлены опыты, в которых дрожжи облучались разное время.

Полученные результаты, в виде средних из многих определений, сведены в табл. 2.

Таблица 2

Влияние различных доз рентгеновского облучения на количество свободных SH-групп в дрожжах (на 1 г сухого вещества)

Доза в тысячах r	Контрольные культуры		Облученные культуры	
	в пересчете на глютатион в мг%	0,001 *N* раствор KJO_3 в мл	SH в пересчете на глютатион в мг%	0,001 *N* раствор KJO_2 в мл
10	150	4,9	154	4,9
20	138	4,5	149	4,9
30	158	5,1	184	6,0
40	156	5,0	215	7,0
50	125	4,1	184	6,0
60	141	4,6	212	7,2
70	129	4,2	196	6,4
80	125	4,1	190	6,2
90	129	4,2	202	6,6
100	129	4,2	202	6,6
120	128	4,2	248	8,2
150	125	4,1	335	10,6

Из приведенных данных можно видеть, что повышение количества свободных SH-групп обнаруживается только после облучения 30—40 тыс. рентгеновских единиц. Дозы в 10—20 тыс. r заметного сдвига по сравнению с контролем не дают. Начиная с доз в 40 тыс. r и примерно до 100 тыс. количество сульфгидрильных групп в основном держится на одном уровне и вновь начинает повышаться при дозах в 120—150 тыс. r.

Полученные результаты действительно подкрепляют предположение о том, что при воздействии ионизирующими излучениями происходит денатурация белка и освобождение сульфгидрильных групп. Сопровождается ли денатурация разрывом связей в белке или только меняется конфигурация белковой молекулы и тем самым освобождаются и становятся активными свободные SH-группы,— пока еще трудно сказать.

Следует отметить, что исследуемый организм Saccharomycodes ludwigii является сравнительно чувствительным к ионизирующим облучениям. Как показали опыты, проведенные в нашей лаборатории уже при дозе рентгеновских лучей в 5000—10 000 r, наблюдается заметная задержка роста и размножения организмов, а 60 000 r вызывает весьма значительное угнетение этих процессов. Следовательно, обнаруженные нами изменения в состоянии сульфгидрильных групп, очевидно, не могут являться основной причиной торможения роста и размножения, хотя играют, по всей вероятности, немаловажную роль в общей реакции живого протопласта на излучения. В пользу этого положения говорит то обстоятельство, что повышенное содержание свободных сульфгидрильных групп сохраняется у потомства облученных клеток в ряде последующих генераций. Если облученные рентгеновскими лучами (60 000 r) дрожжевые клетки посеять на свежую питательную среду и дать им возможность размножаться 24 и 48 часов, то в клетках полученной таким путем культуры определяется значительно большее количество свободных SH-групп, чем в контрольных культурах того же возраста (табл. 3).

Важнейшее потомство облученных дрожжевых клеток отличается от контрольных рядом особенностей. У них еще сохраняются и даже иногда усиливаются те сдвиги и отклонения в структуре и обмене веществ, которые были вызваны непосредственным воздействием излучения. К числу таких отклонений относится и обнаруженное нами повышение количе-

Таблица 3

Количество SH-групп в дрожжах, размноженных после рентгеновского облучения дозой в 60 000 r (на 1 г сухого вещества)

Контрольные культуры		Облученные культуры	
SH в пересчете на глютатион в мг %	0,001 *N* раствор KJO_3 в мл	SH в пересчете на глютатион в мг %	0,001 *N* раствор KJO_3 в мл
95	3,2	190	6,2
92	3,0	147	4,8
98	3,4	184	6,0
92	3,0	147	4,8
95	3,2	147	4,8
99	3,0	178	5,6
104	3,4	184	6,0
92	3,0	172	5,6

Примечание. Некоторое общее снижение содержания SH-групп в этой серии опытов объясняется изменением характера питательной среды.

ства свободных сульфгидрильных групп. Эти сдвиги, характеризующие частичную и, очевидно, в известной мере обратимую денатурацию белковых компонентов клетки, передаются значительному количеству генераций клеток; в наших опытах они распространяются по меньшей мере на сто клеточных генераций. В дальнейшем отмеченные изменения постепенно сглаживаются, и содержание свободных сульфгидрильных групп у потомства облученных клеток приходит к норме.

Приношу искреннюю благодарность М. Н. Мейселю, под общим руководством которого выполнена эта работа.

Выводы

1. Под влиянием рентгеновского облучения в дрожжевых клетках возрастает количество свободных сульфгидрильных групп.
2. Увеличение сульфгидрильных групп становится отчетливо заметным после облучения дозами в 30—40 тыс. r и возрастает по сравнению с контролем в два-три раза после облучения дозами 120—120 тыс. r.
3. Потомство облученных дрожжевых клеток на протяжении многих (до 100) генераций сохраняет повышенное содержание свободных сульфгидрильных групп. В дальнейшем эти изменения сглаживаются.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 20.VII.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Попова Е. М. Разжижение дрожжей при хранении. Биохимия, **2**, 90, 1937.
2. Проскуряков Н. И. Об определении и изменении глютатиона в прессованных дрожжах при различных условиях хранения. Хлебопекарная промышленность, № 1, 3, 1940.
3. Проскуряков Н. И. Естественные активаторы протеолиза в пшеничной муке. Биохимия хлебопечения, № 1, 61, 1938.
4. Barron E. S. G., Dickman S., Numtz J. A. a. Singer T. P. Studies on the mechanism of action of ionizing radiations, J. Gen. Physiol., 32, 537, 1949.
5. Ephrati E. Mechanism of the effect of X-rays on bacterial toxins. Biochem. J., 42, 383, 1948
6. Hanes C. S. a. Hird S. R. Synthesis of peptides in enzymic reactions involving glutathione. Nature, **166**, 288, 1950.

ВЛИЯНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ СООТНОШЕНИЙ МЕЖДУ УГЛЕРОДОМ И АЗОТОМ НА ОБМЕН У КУЛЬТУР ДХАРОВСКИХ ДРОЖЖЕЙ [1]

К. Бахадур

Многие микроорганизмы способны использовать для своего развития атмосферный азот. Недавно Линдстрём, Льюис и Пинский [11] показали способность к азотфиксации у пяти видов Athiorhodaceae и 19 штаммов Rhodopseudomonas и Rhodomicrobium vannielii. Одно время считалось, что способность к фиксации азота свойственна тем организмам, которые содержат гидрогеназу. Однако это оказалось не соответствующим действительности, так как выяснилось, что E. coli и Hydrogenomonas содержит активную гидрогеназу, но неспособны фиксировать азот, Систер и Цобелл [15] установили, что многие виды рода Desulfovibrio способны фиксировать азот. Эти данные, наряду с ранее опубликованными данными Камен и Джест [7] о Rhodospirillum rubrum и данными Линдстрём, Тове и Вильсон [10] о Chlorobacterium, показывают, что все фотосинтезирующие бактерии обладают способностью фиксировать азот. Увеличивается перечень водорослей, способных фиксировать атмосферный азот. Фогг [3] установил, что Mastigocladus laminosus хорошо растет в среде, свободной от связанного азота.

Все больше накапливается данных об азотфиксирующей способности дрожжей. Иодин [6] и Галлиер [5] утверждают, что дрожжи способны фиксировать атмосферный азот. Однако Вольф и Циммерман [17] этого подтвердить не могли. Цикес [18] выделил дрожжи (торула), способные фиксировать от 2,3 до 2,4 мг азота на 1 г глюкозы. Лёнис и Пиллаи [13] наблюдали незначительную фиксацию азота у одной торулы. Липман [12] обнаружил способность к фиксации азота у истинных сахаромицетов и торул. Эта фиксация была высокой в растворах, содержащих декстрозу. Однако Линднер и Науман [9] не получили фиксацию азота даже в растворах, содержащих 5% сернокислого магния, 0,5% одноосновного фосфорнокислого калия и 0,025% аспарагина. Но эти результаты находятся в резком противоречии с данными других исследователей. Коссович [8] утверждает, что поскольку дрожжи могут расти при незначительных количествах азота, они неспособны фиксировать атмосферный азот. Наши исследования по азотистому обмену у дхаровских дрожжей [1] дают ответ на указанные противоречия.

До сих пор в исследованиях по азотфиксации у микробов эмпирически устанавливался факт наличия или отсутствия у определенных микроорганизмов способности фиксировать азот. Влияние же на азотистый обмен таких факторов как отношение между C и N в среде, pH, температуры и присутствия в среде различных источников минерального питания исследовано недостаточно. Между тем указанные факторы в значительной степени влияют на азотистый обмен как с количественной, так и с качественной стороны.

При помощи указанных факторов можно увеличить азотфиксацию до максимума или снизить ее до нуля, или даже изменить обмен в сторону потери азота.

---

[1] Дхаровские дрожжи принадлежат к роду Pichia. Они описаны в ряде работ Дхара и Бахадура (Dhar a. Bahadur [1]).

Бейеринк в 1901 г. выделил Azotobacter chroococcum, который способен энергично фиксировать азот. Этот организм может быть выращен в чистых культурах, но фиксация азота в таких культурах может и не иметь места. Некоторые штаммы этого организма могут утратить способность фиксировать азот и начинают расти за счет усвоения связанного азота.

Длительное культивирование Clostridium pasteurianum в лабораторных средах приводит к тому, что этот организм теряет способность фиксировать азот. Но эта способность может быть восстановлена при соответствующем изменении условий культивирования. Отмеченные изменения в способности к фиксации азота, которые могут привести к полной потере этой способности и даже к потерям в азоте при изменениях условий культивирования, показывают, что условия среды являются наиболее важным фактором, влияющим на азотный обмен.

В настоящей работе поставлена задача изучить влияние отношения между содержанием C и N в среде на азотный обмен у дхаровских дрожжей, используя сахарозу как источник C и сернокислый аммоний как источник N.

Экспериментальная часть

Стерилизация сред осуществлялась нагреванием в автоклаве при давлении в 20 lbs (около 1,4 атм.) в течение 30 минут. Определение азота в среде и в дрожжевых клетках производилось по методу Кьельдаля и Гуннинга.

Для определения азота в культуральной жидкости 100 мл отфильтрованного раствора выпаривались досуха, и осадок кипятился с 5 г серно-

Таблица 1

Состав среды и потребление сахара

Колич. сахарозы, внесенное в среду в начале опыта, в г	Колич. сернокислого аммония в среде в начале опыта в г	Отношение C : N в среде в начале опыта	Общее колич. сахара, оставшееся в среде, в г	Колич. редуцирующих сахаров, оставшееся в среде, в г	Колич. нередуцирующих сахаров, оставшееся в среде, в г
0,00	2,50	0,00	0,00	0,00	0,00
1,00	2,50	0,71	0,00	0,00	0,00
2,00	2,50	1,42	0,00	0,00	0,00
4,00	2,50	2,85	0,00	0,00	0,00
6,00	2,50	4,28	0,00	0,00	0,00
8,00	2,50	5,70	0,00	0,00	0,00
10,00	2,50	7,13	0,00	0,00	0,00
20,00	2,40	14,97	6,74	6,74	0,00
20,00	1,60	22,46	8,45	8,45	0,00
20,00	0,80	44,92	11,25	11,25	0,00
20,00	0,60	55,53	13,37	13,37	0,00
20,00	0,30	119,80	14,44	14,41	0,03
20,00	0,10	359,40	16,65	16,49	0,16
20,00	0,00	∞	20,67	14,44	—

кислого калия, 0,2 г сернокислой меди и 20 мл концентрированной серной кислоты до просветления жидкости.

Прозрачный раствор подвергался перегонке в присутствии избытка щелочи, и освобождающийся при этом аммиак определялся путем поглощения его стандартным раствором кислоты и последующего титрования стандартной щелочью.

Когда исследовались дрожжевые клетки, то определенная навеска сухих дрожжей сжигалась по Кьельдалю, и затем производилась отгонка в присутствии избытка щелочи, как описано выше.

Таблица 2

Потребление сахара и образование кислот в зависимости от отношения C : N в среде

Отношение C : N в среде	Потребленный сахар в г	% потребленного сахара	Общее колич. образующейся кислоты в г	Колич. образовавшихся летучих кислот в г	Колич. образовавшихся нелетучих кислот в г	Колич. образовавшихся кислот, рассчитанное в %, исходя из колич. потребленного сахара
0,00	0,00	—	0,1680	0,0020	0,1559	—
0,71	1,00	100	0,2350	0,0017	0,2333	23,50
1,42	2,00	100	0,3358	0,0034	0,3324	16,70
2,85	4,00	100	0,4936	0,0042	0,4894	12,84
4,28	6,00	100	0,6672	0,0050	0,6622	11,20
5,70	8,00	100	1,0618	0,0134	1,0484	13,44
7,13	10,00	100	1,1088	0,0202	1,0086	11,08
14,97	13,26	66,30	1,3608	0,0302	1,3306	10,25
22,46	11,55	57,75	1,3967	0,0277	1,3690	12,09
44,92	8,75	43,75	0,8988	0,1176	0,7812	10,27
55,53	6,63	33,15	0,5380	0,1680	0,3700	8,11
119,80	5,56	27,80	0,4116	0,0168	0,3948	11,10
359,40	3,35	16,75	0,2816	0,0011	0,2805	8,70
∞	0,00	0,00	0,0672	0,0027	0,0647	—

Таблица 3

Изменения в количестве углерода в среде в зависимости от отношения C : N

Отношение C : N в среде	Колич. углерода в среде до сбраживания в г	Колич. углерода, оставшегося в среде, в г	Колич. потребленного углерода, в г	Колич. углерода в дрожжевых клетках, выросших при брожении, в г	Колич. углерода в дрожжевых клетках в %	Колич. углерода, необходимого для образования 1 г сухого веса дрожжей, в г
0,00	0,00	0,6233	—	—	—	—
0,71	0,4210	0,6509	—	0,0790	43,43	—
1,42	0,8420	0,6598	0,1822	0,2043	51,15	0,4386
2,85	1,6840	0,6638	1,0202	0,4695	54,64	1,1873
4,28	2,5260	0,4897	2,0363	3,9682	55,18	1,1702
5,70	3,3680	0,4957	2,8623	1,1400	50,00	1,2518
7,13	4,2100	0,9699	3,2401	1,0920	47,74	1,4128
14,97	8,4200	2,9950	2,0510	2,0510	55,58	1,4707
22,46	8,4200	3,5070	1,5160	1,5160	47,35	1,4905
44,92	8,4200	3,9720	4,4490	1,3020	53,42	1,8256
55,53	8,4200	4,4280	3,9920	0,6724	53,39	3,1314
119,80	8,4200	4,7130	3,7070	0,5336	45,77	3,1798
359,4	8,4200	5,7620	2,6580	0,3444	53,96	4,1648
∞	8,4200	6,6790	1,7410	—	—	—

Определение углерода в культуральной жидкости и в дрожжах производилось по методу Кьельдаля.

Каждая среда содержала 0,20 г углекислого кальция, 0,25 г углекислого магния, 0,20 г сернокислого калия, 0,20 г фосфорнокислого натрия (двузамещенного), 0,20 г хлористого натрия и 0,05 г сернокислого цинка и, кроме того, сернокислый аммоний и сахарозу, в количествах, которые будут указаны для каждого варианта среды. Все использованные для приготовления среды реактивы были химически чистыми. Отвешенные количества солей растворялись в минимальном количестве разведенной соляной кислоты. Затем раствор доводится до 400 мл, а pH среды — до 4,5.

Таблица 4

Изменения в количестве азота в зависимости от отношения C : N в среде

Отношение C : N в среде	Колич. азота, в среде в начале опыта в г	Колич. азота, оставшегося в среде, в г	Колич. азота, потребленного при брожении, в г	Колич. азота в дрожжевых клетках, в г	Фиксация (+) или убыль (—) азота в г	Колич. азота в дрожжевых клетках в %	Колич. азота, фиксированного (+) или утраченного (—) на 1 г дрожжей, в г
0,00	0,5303	0,5344	—	0,0034	+0,0071	10,60	+0,1994
0,71	0,5303	0,5292	0,0011	0,0124	+0,0113	6,84	+0,0621
1,42	0,5303	0,5254	0,0049	0,0254	+0,0205	6,34	+0,0513
2,85	0,5303	0,4241	0,1062	0,0416	—0,0646	4,79	—0,0750
4,28	0,5303	0,4241	0,1062	0,0948	—0,0054	5,45	—0,0031
5,70	0,5303	0,4256	0,1047	0,1095	+0,0048	4,81	+0,0021
7,13	0,5303	0,4252	0,1051	0,1198	+0,0146	5,22	+0,0065
14,97	0,5088	0,1238	0,3850	0,2947	—0,0903	7,98	—0,0245
22,46	0,3392	0,0000	0,3392	0,1479	—0,1413	4,448	—0,0580
44,92	0,1696	0,0023	0,1673	0,0464	—0,1209	1,90	—0,0491
55,53	0,1372	0,0087	0,1285	0,0640	—0,0645	5,00	—0,0504
119,80	0,0636	0,0043	0,0593	0,0483	—0,0150	3,80	—0,0128
359,40	0,0212	0,0000	0,0212	0,0040	—0,0172	0,06	—0,0272
∞	0,0000	0,0000	0,0000	0,00003	—0,0000	0,00	+0,0007

Для выращивания культур пользовались плоскодонными колбами на 750 мл из пирекса. Колбы закрывались пробками из неадсорбирующей хирургической ваты и стерилизовались, как указано выше. После охлаждения среды засевались следами активированной культуры дхаровских дрожжей и оставлялись для брожения в условиях покоя при комнатной температуре. Брожение длилось в течение 68 дней; колебания температуры за этот период были в пределах от 28 до 34 °C.

Результаты, полученные при анализах культуральной жидкости, приводятся в табл. 1, 2, 3 и 4.

Обсуждение полученных данных

Приведенные данные показывают, что способность дхаровских дрожжей к фиксации азота может в значительной степени варьировать в зависимости от различного отношения в среде углерода к азоту. При низких значениях C : N имеет место значительная убыль азота в дрожжевых культурах. Эта убыль снижается до минимума с увеличением отношения C : N и постепенно доходит до нуля. При дальнейшем увеличении отношения C : N культуры начинают фиксировать азот, и эта фиксация увеличивается с увеличением отношения C : N. После некоторого предела дальнейшее увеличение отношения C : N приводит уже к снижению азотфиксации, и последняя может дойти до нуля.

Последующее увеличение отношения C : N вызывает снова убыль азота, которая сначала увеличивается, а затем достигает постоянного уровня, вслед за тем снижается до нуля при дальнейшем увеличении отношения C : N. Таким образом, кривая, выведенная на основании полученных результатов, имеет характер периодических колебаний.

Потребление сахара дрожжами постепенно уменьшается с уменьшением отношения C : N.

Процентный прирост дрожжей увеличивается с увеличением отношения C : N, оставаясь почти постоянным при C : N в пределах от 4,28 до 44,92, после чего медленно снижается с увеличением C : N. Но вес сухих дрожжей, действительно развившихся в данной среде, постепенно увели-

чивается при увеличении C : N от 0 до 14,97. При дальнейшем возрастании отношения C : N он уменьшается до C : N равного ∞, составляя 0,0356; 3,6886 и 0,043 г при C : N = 0; 14,97 и ∞ соответственно.

Данные об изменениях в углероде выявили весьма интересный факт. Оказалось, что несмотря на то, что количество углерода дрожжевых клеток, выросших при разных отношениях C : N, в процентном отношении колеблется не очень значительно, оставаясь в пределах между 43 и 55%, скорость дыхания клеток подвергается очень сильным изменениям.

Если высчитать количество углерода, необходимое для образования 1 г сухих дрожжей, то окажется, что при C : N, равном ∞, должно быть употреблено около 40,48 г углерода для того, чтобы получить 1 г дрожжей, но при C : N, равном 2,85, для образования этого же количества дрожжей необходимо только 1,1873 г углерода. При C : N менее 2,85 фиксация углерода наблюдается, но при C : N = 1,42 необходимо только 0,4386 г углерода, чтобы получить 1 г дрожжей, в то время как это количество дрожжей содержит 0,5115 г углерода и какое-то количество углерода должно быть потреблено при дыхании дрожжей.

Процентное содержание азота, образующегося в дрожжах во время брожения, уменьшается с увеличением C : N в среде, составляя 10,60 и 0,06 при C : N, равном 0 и 359,4 соответственно.

На способность дрожжей фиксировать или утрачивать азот значительное влияние оказывают изменения в отношении C : N в среде. Когда C : N очень низкое, культуры обнаруживают способность фиксировать азот. Эта способность постепенно снижается с увеличением C : N от 0 до 1,42, после чего дальнейшее увеличение C : N вызывает уже потерю азота. Эта потеря азота уменьшается, когда C : N увеличивается от 2,85 до 4,28. При дальнейшем росте C : N (при C : N = 5,70 и 7,13) потеря азота сменяется его фиксацией. Последующие увеличения C : N приводят к потере азота дрожжами.

Фиксация азота разными дрожжами, как указывалось в введении, является установленным фактом.

Потеря азота при увеличении количества азота, фиксированного культурой, находится в соответствии с потерей азота в почвах, о которой сообщили Дхар и Пант [2]. Эти авторы наблюдали значительную потерю азота во время процесса активной нитрификации аммонийных солей или других азотистых соединений. В почвах эта потеря может быть приписана одновременному присутствию ионов аммония и нитратов, которые впоследствии образуют нитриты аммония и освобождают свободный азот. Геррестсен [4] установил, что активная нитрификация в легких почвах с буферной способностью, достаточной для того, чтобы поддерживать pH между 4,5 и 5,55, может привести к значительным потерям азота.

В литературе имеются указания на то, что растения на некоторых этапах своего роста могут терять молекулярный азот. Пирсал и Биллиморна [14] в своей работе с листьями Narcissus pseudonarcissus pocticus и Виккери с соавторами [16] в своих опытах с листьями Narcissus pocticus отмечают утрату азота развивающимися листьями. Это явление они приписывают окислению аммиака, образующегося при дезаминировании аминокислот в нитрит.

У микроорганизмов потеря молекулярного азота при низком C : N вызывается как физико-химическими, так и химическими и биохимическими факторами.

Белок микроорганизмов, способный синтезировать различные ферменты, необходимые им для жизнедеятельности, по всей вероятности, синтезирует также и энзимы для денитрификации, когда в культуральной среде много связанного азота.

Таким образом, условия среды, в которых организм развивается, имеют весьма существенное значение и должны учитываться при изучении его азотного обмена.

Выводы

Увеличение отношения углерода и азота в среде увеличивает скорость дыхания у дхаровских дрожжей.

Процентный состав углерода дрожжевых клеток остается почти постоянным при разных отношениях C : N. Процентное содержание азота в клетках снижается с увеличением C : N. Увеличение C : N в пределах между 14,97 и 359,4 уменьшает потерю азота культурами дхаровских дрожжей.

Автор глубоко обязан проф. Н. Р. Дхару (N. R. Dhar) за его ценные советы при проведении данных исследований.

Химический факультет
Аллахабадского университета
Индия

Получено 15.VII.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Dhar N. R. a. Bahadur K. Proc. Nat. Acad. Sci. India, **19**, part II, 55, 1950.
2. Dhar N. R. a. Pant M. C. J. Indian Chem. Soc., **71**, 215, 1951.
3. Fogg G. E. J. Exp. Bot., **2**, 177, 1951.
4. Gerrestsen F. C. Grans. 4th Intern. Congr. Soil Sci., **2**, 114, 1950.
5. Hallier. Z. Parasitenkunde, **1**, 29.
6. Jodin. C. R. Acad. Sci., **55**, 612.
7. Kamen M. D. a. Gest H. Science, **109**, 560, 1949.
8. Kossowicz A. Question of assimilation of elementary nitrogen by yeasts and mould fungi. Biochem. Z., **64**, 82, 1914.
9. Lindner P. a. Naumann C. W. Assimilation of nitrogen of air by yeasts and moulds. Wschr. f. Brauerei, **30**, 589.
10. Lindstrom E. S., Tove S. R. a. Wilson P. W. Science, **112**, 197, 1950.
11. Lindstrøm E. S., Lewis S. M. a. Pinsky M. J. J. Bact., **61**, 481, 1951.
12. Lipman C. B. Nitrogen fixation by yeast and other fungi. J. Biol. Chem., **10**, 169.
13. Löhnis F. u. Pillai N. K. Ztbl. Bakt., II Abt., **20**, 781, 1908.
14. Pearsall W. H. a. Billimoria M. C. Biochem. J., **31**, 1743, 1937.
15. Sisler F. D. a. ZoBell C. E. Science, **113**, 511, 1951.
16. Vickery H. B., Pucher G. W., Wakeman A. J. a. Leavenworth C. S. Congr. Agr. Exp. Sta Bull., **496**, 1, 1946.
17. Wolf u. Zimmermann. Jahresbericht Ag. Chem., **13**, 169.
18. Zikes, Sitzungsber. Akad. Wien, Math.-Naturwiss. Kl., **118**, 1091.

АДАПТАЦИЯ ДРОЖЖЕЙ К ЯДАМ

А. А. Имшенецкий и *К. З. Перова*

Приучение микроорганизмов к самым различным физическим и химическим факторам осуществляется с различной скоростью. Последняя определяется как характером фактора, так и биологическими особенностями данного микроба. Однако только в очень редких случаях исследователя постигает неудача, и он не получает нужной ему устойчивой расы микроба. Сам факт приучения микробов не вызывает сомнений, но ряд теоретических проблем, связанных с адаптацией к внешним воздействиям, продолжает служить предметом дискуссии.

Ряд генетиков утверждает, что в процессе адаптации происходит только отбор устойчивых форм, возникающих в культурах спонтанно. При этом игнорируется роль внешнего в возникновении новых вариантов. Трудно предположить возможность предсуществования в популяции микробов форм, устойчивых к любому химическому соединению, так как адаптация может быть осуществлена к самым различным химическим факторам. Следовательно, внешние условия не только селекционируют, но и вызывают образование устойчивых вариантов. Одновременно с этой основной проблемой возникает ряд других. Возможно ли установить специфичность действия внешнего фактора? Изменяется ли обмен веществ и морфология устойчивых форм различным образом при действии определенных ядов? Существуют ли методы, ускоряющие процесс адаптации микробов?

В данной статье описаны опыты по приучению дрожжей к таким сильным ядам, как сулема и фенол. Исследования имели своей целью получить расы дрожжей, устойчивые к этим ядам, и одновременно выяснить физиологические и морфологические особенности приученных дрожжей.

Экспериментальная часть

Методика приучения

Опыты были проведены с пивными дрожжами Saccharomyces cerevisiae (Томская раса). Культивирование дрожжей производилось на пивном сусле 7° Балг. К пивному суслу добавлялись перед стерилизацией растворы сулемы или фенола с таким расчетом, чтобы была достигнута необходимая концентрация ядов в сусле. Остановимся на некоторых особенностях методики.

1. Имеющийся у нас опыт по приучению микроорганизмов к различным физическим или химическим факторам говорит о том, что микроорганизмы хорошо переносят однократное воздействие довольно высоких концентраций ядов без ослабления жизнедеятельности. Это в одинаковой мере относится к высокой температуре, лучистой энергии и т. д. Однако многократные пассажи при этой концентрации яда заканчиваются вырождением и гибелью культуры. Поэтому наши исследования были начаты с выяснения концентраций ядов, многократно переносимых дрожжами. С этой целью были произведены пассажи культуры на средах с различным содержанием сулемы или фенола и затем поставлены опыты по сбраживанию пивного сусла, содержащего эти яды. Концентрация яда, при которой, несмотря на предшествующие пассажи дрожжей на среде с ан-

тисептиками, шло брожение столько же интенсивно, как и в контроле, была принята нами за исходную. Следует подчеркнуть, что приучение микроорганизмов к любому фактору должно начинаться с концентраций, совершенно не угнетающих микроорганизмы при многократных воздействиях.

2. Приучение дрожжей к ядам осуществлялось путем пассажей культуры на сусле, содержащем все возрастающие концентрации ядов. Повышение концентрации ядов должно производиться крайне осторожно и только после длительных пассажей культуры на более низких концентрациях. Пересевы производились обычно через один или два дня; что же касается числа пассажей на различных концентрациях ядов, то оно варьировало от 5 до 83.

3. Вопрос о своевременности перехода к более высоким концентрациям решался на основании интенсивности брожения сусла в пробирке и количества образуемого осадка. Появление коричневатых оттенков осадка говорило о неблагоприятном действии ядов на дрожжи. Хорошим критерием служит определение числа мертвых клеток при помощи стандартной окраски метиленовой синей. Увеличение числа окрашивающихся клеток в препарате (по сравнению с контролем, т. е. культурой на обычном сусле) указывает на отравление дрожжей ядами. Однако даже значительный процент мертвых клеток в культуре не говорит о необходимости перехода к более низкой концентрации яда. Иногда число окрашивающихся клеток достигало 40%, но при дальнейших пассажах культуры на этой же концентрации яда количество мертвых клеток не увеличивалось, а уменьшалось до 4—6%. При плохом развитии дрожжей всегда следует прекратить опыты по адаптации к данной концентрации ядовитого вещества и либо уменьшить его содержание, либо продолжить пассирование на предшествующих концентрациях яда. Ввиду возможной гибели культуры в процессе адаптации обычно дрожжи продолжали культивировать на средах с более слабыми концентрациями яда, на которых велось приучение раньше.

4. В процессе работы было установлено, что адаптация дрожжей к ядам значительно ускоряется, если изредка (обычно один раз в месяц) пересевать приучаемую культуру на пивное сусло, не содержащее ядов. После такого однократного культивирования дрожжей на сусле в течение двух суток культуры снова пересевают на среды с ядами. Развитие на среде без ядовитых веществ улучшает физиологическое состояние дрожжей и облегчает их дальнейшую адаптацию.

Обсуждение результатов

Исследования по приучению дрожжей к сулеме и фенолу продолжались в течение двух лет и трех месяцев. В этот срок не входит время, затраченное на предварительные опыты, связанные с установлением первичной концентрации ядов. Данные о применявшихся концентрациях сулемы в числе произведенных пассажей приведены в табл. 1. Начальная концентрация сулемы, не вызывавшая ослабления и дегенерации культуры, была равна 1 : 80 000. С повышением содержания сулемы в сусле требовалось все большее и большее число пассажей, прежде чем становился реальным переход к более крепким растворам. Так, в среде, содержащей сулему 1 : 10 000, понадобилось 73 пересева, при концентрации немногим выше, именно 1 : 9500,— 83 пассажа. Все это говорит о том, что приучение к такому сильному яду, как сулема, происходит с большим трудом и очень медленно. В итоге за 27 месяцев удалось увеличить концентрацию сулемы в среде почти в десять раз и получить расу дрожжей, растущую в сусле, содержащем сулему в разведении 1 : 8500. После 38 пассажей на этой среде дрожжи хорошо размножались и сбраживали углеводы сусла. Но для этого в общей сложности потребовалось 398 пассажей.

Таблица 1

Приучение дрожжей Saccharomyces cerevisiae (Томская раса) к сулеме

Концентрация сулемы в сусле	Число пассажей, после которых был произведен пересев в среду с более высоким содержанием сулемы	Общее число пассажей на данной концентрации
1 : 80 000	5	50
1 : 40 000	20	—
1 : 30 000	18	—
1 : 20 000	35	400
1 : 15 000	39	393
1 : 13 000	33	142
1 : 10 000	73	251
1 : 9 500	83	144
1 : 9 000	54	95
1 : 8 500	38	38
Общее число произведенных пассажей	398	—

Перейдем к рассмотрению опытов по приучению дрожжей к фенолу. Результаты этих опытов сведены в табл. 2.

Таблица 2

Приучение дрожжей Saccharomyces cerevisiae (Томская раса) к фенолу

Концентрация фенола в сусле	Число пассажей, после которых был произведен пересев в среду с более высоким содержанием фенола	Общее число пассажей на данной концентрации
1 : 4000	5	—
1 : 2000	7	—
1 : 1000	38	94
1 : 950	21	65
1 : 900	17	101
1 : 800	21	487
1 : 700	36	366
1 : 600	113	315
1 : 500	142	—
Общее число произведенных пассажей	400	—

Исходная концентрация фенола, не угнетающая культуры в течение ряда пересевов, оказалась равной 1 : 4000. После пяти пересевов содержание фенола в питательной среде вначале повышалось довольно быстро, но затем такое повышение происходило медленнее. Общее правило — чем выше концентрация яда, тем больше требуется произвести пассажей до перехода к более высоким концентрациям яда — полностью применимо и к этим опытам. Так, например, прежде чем перейти с концентрации 1 : 600 на концентрацию 1 : 500, потребовалось 113 пересевов. В общей сложности было сделано 400 пассажей в течение 27 месяцев, и это позволило получить расу дрожжей, устойчивость которой к фенолу возросла в восемь раз, и они не только размножались, но выдержали 142 пересева при концентрации фенола, равной 1 : 500. Существенно, что при данной

концентрации исходные дрожжи (т. е. не подвергавшиеся адаптации) совершенно не развиваются.

Как и следовало ожидать, адаптация к таким ядовитым веществам, как сулема и фенол, совершается очень медленно. В противоположность этому, приучение к веществам биологического происхождения, активно действующих на клетку микробов, например к антибиотикам, осуществляется с поразительной быстротой.

Таким образом, в результате постепенной адаптации можно получить культуры микроорганизмов, устойчивые к таким сильным ядам, как сулема и фенол.

При микроскопии живых клеток дрожжей становилось очевидным, что адаптация дрожжей как к сулеме, так и к фенолу сопровождается резкими морфологическими изменениями, но эти изменения совершенно различны. Этот факт заслуживает внимания в связи с проблемой специфических действий ядовитых веществ.

Описание этих морфологических изменений будет дано в следующей статье.

Выводы

1. Приучение дрожжей Saccharomyces cerevisiae к таким сильно ядовитым веществам, как сулема и фенол, происходит медленно, и поэтому опыты по адаптации проводились в течение 27 месяцев. Для получения расы, устойчивой к сулеме, понадобилось 398 пассажей на средах с постепенно возрастающей концентрацией яда. Раса, устойчивая к фенолу, была получена после 400 пассажей.

2. Исследования по адаптации микроорганизмов к ядам следует начинать с концентраций, не угнетающих жизнедеятельность микробов при многократных пересевах. Переход к более высоким концентрациям должен быть постепенным. При значительном угнетении размножения необходимо культуру вернуть на среду с более низкой концентрацией ядовитого вещества. В противном случае наблюдается дегенерация и гибель культуры микроорганизма.

3. В результате последовательных пересевов культуры дрожжей на средах, содержащих повышающиеся концентрации ядовитых веществ, была повышена устойчивость дрожжей к сулеме приблизительно в десять раз (исходная концентрация 1 : 80 000, конечная 1 : 8500) и к фенолу в восемь раз (исходная концентрация 1 : 4000, конечная 1 : 500). При содержании фенола в сусле в количестве 1 : 500 исходные (неадаптированные) дрожжи не развивались совершенно.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 30.X.1954 г.

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ У ДРОЖЖЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ СУЩЕСТВОВАНИЯ

Л. Г. Логинова

В лабораторных условиях нами была получена термофильная раса дрожжей, активно развивавшаяся при температуре 40°. Эта раса отличалась от исходной формы рядом свойств. В частности, при выращивании при более низкой температуре (28—30°) она давала тот же выход спирта, но накапливала в конце брожения больше биомассы, чем исходная мезофильная форма при этой же температуре (Логинова [2]).

Этот факт привлек наше внимание, и мы решили проверить — нельзя ли закономерно получать указанное явление, если в начале дрожжи длительное время выдерживать при менее благоприятных температурных условиях, а затем возвращать их в прежние условия культивирования.

Для испытания была взята термофильная раса дрожжей, которая длительно выращивалась (на протяжении четырех лет) на высококонцентрированном пивном сусле (15—16° Балг.) при температуре 44° и отличалась от исходной термофильной расы, развивающейся при 40°, значительно меньшей активностью.

Нас интересовал вопрос — нельзя ли увеличить интенсивность брожения и размножения у этих дрожжей, если культивировать их при более низкой температуре (40°).

Методика постановки опытов описана нами ранее (Логинова [2]).

Испытания дрожжей производились на пивном сусле с высоким и низким содержанием сахара (15—16° Балг. и 9—10° Балг.). В качестве контроля была применена термофильная культура, развивающаяся при температуре 39—40° (контроль 1), а также мезофильная исходная форма Saccharomyces cerevisiae, XII раса, развивающаяся при 28—30° (контроль 2).

Подробная характеристика указанных рас дрожжей дана в более ранних исследованиях (Логинова [2]). Ниже приведены цифровые данные анализа культуральной жидкости после двухсуточного брожения (табл. 1).

Мы видим, что термофильные дрожжи развивались при более низкой температуре (40) значительно интенсивнее, чем исходные термофильные дрожжи, для которых эта температура была привычной. Так, при брожении, проведенном опытной термофильной расой дрожжей, спирта в среднем образовалось 5,15 г в 10 мл среды, в то время как исходная термофильная форма, при этой же температуре (40°), образовала лишь 3,98 г в 100 мл среды. Аналогичные результаты получены и по скорости размножения клеток (см. рисунок). Опытная культура накапливает клеток больше, чем исходная термофильная раса примерно в полтора раза.

Следующая серия опытов была проведена с этими же дрожжами, но средой служило пивное сусло с пониженным содержанием сахара. Все остальные условия опыта сохранились те же.

Приведенный цифровой материал показывает, что при данных условиях опыта не наблюдалось заметных различий в активности у двух испытуемых рас дрожжей.

Объяснить это явление можно, вероятно, тем, что термофильные дрожжи были приучены развиваться на высококонцентрированном пивном

Таблица 1

Брожение, проведенное при 39—40° на пивном сусле (15—16° Балг.) двумя термофильными расами дрожжей. (Дрожжи длительное время развивались на сусле с такой же концентрацией сахара, но при различных температурах 40° и 44°)

№ опыта	Дрожжи	Температура опыта в °	Первонач. содерж. сахара в среде в г/100 мл	Колич. спирта в г/100 мл среды в г	Колич. веществ, оставш. в среде, в г/100 мл	Колич. дрожжевых клеток в млн/мл	
						в начале	в конце
1	Термофильные, развивающиеся при 40° (контроль 1)	39—40	15,44	3,50	8,71	1,93	43,3
	Термофильные, развив. при 44° (опыт) . . .	39—40		4,93	6,53		72,62
	То же	44—45		1,63	13,54		13,80
	Термофильные, развив. при 40° (контроль 3)	44—45		1,94	11,0		10,0
2	Термофильные, развив. при 40° (контроль 1)	39—40	16,0	4,82	6,91	4,08	57,2
	Термофильные, развив. при 44° (опыт) . . .	39—40		5,47	5,59		75,5
	Мезофильные, развив. при 28—30° (контроль 2)	29—30		4,75	7,22		55,7
3	Термофильные, развив. при 40° (контроль 1)	39—40	14,8	3,64	7,64	4,67	41,1
	Термофильные, развив. при 44° (опыт) . . .	39—40		5,06	5,47		60,7
	Мезофильные, развив. при 28—30° (контроль 2)	29—30		4,81	5,82		51,1

Таблица 2

Брожение, проведенное на пивном сусле с низким содержанием сахара двумя термофильными расами дрожжей. (Дрожжи предварительно длительное время культивировались на пивном сусле 15—16° Балг., но при различных температурах 40° и 44°)

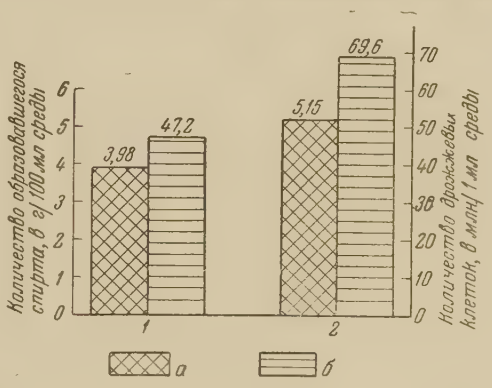
Дрожжи	Температура опыта в °	Первонач. содерж. сахара в среде в г/100 мл	Колич. образов. спирта в г/100 мл среды	Колич. оставш. ред. вещ. в г/100 мл среды	Колич. дрожжевых клеток в млн/мл среды	
					в начале	в конце
Термофильные, развивающиеся при 40° (контроль 1)	39—40	8,04	3,23	2,10	4,36	52,12
Термофильные, развив. при 44° (опыт) . .	39—40	8,04	2,92	2,58	4,36	60,10
Мезофильные, развив. при 28—30° (контроль 2)	29—30	8,04	3,25	2,03	4,36	68,50
Термофильные, развив. при 40° (контроль 3)	44—45	8,04	1,61	4,35	4,36	39,50
Термофильные, развив. при 44° (опыт 2) .	44—45	8,04	1,37	4,79	4,36	16,75

Таблица 3

Брожение, проведенное на пивном сусле с низким содержанием сахара двумя термофильными расами дрожжей. (Дрожжи предварительно длительное время культивировались на пивном сусле 15—16° Балг., но при различных температурах)

№ опыта	Дрожжи	Температура опыта в °	Первонач. содерж. сахара в среде в г/100 мл	Колич. образов. спирта в г/100 мл среды		Колич. оставш. ред. вещ. в г/100 мл среды			Колич. дрожжев. клеток в млн/мл среды	
				Длительность брожения (сутки)						
				2	3	2	3	0	2	3
1	Термофильные, развивающиеся при 40° (контроль 1)	39—40	8,15	3,13	3,59	2,92	2,30	3,82	39,87	50,3
	Термофильные, развив. при 44° (опыт)	39—40		3,14	3,35	3,14	2,94	3,82	65,30	60,03
2	Термофильные, развив. при 40° (контроль 1) . .	39—40	9,9	3,68	4,22	3,88	3,07	2,68	44,15	42,5
	Термофильные, развив. при 44° (опыт)	39—40		3,80	3,95	3,81	3,81	2,68	58,10	66,0

сусле. Среда же с низким содержанием сахара оказалась для них менее благоприятной. Приведенный фактический материал показывает, что наблюдаемое явление (повышение активности у термофильных дрожжей) закономерно обнаруживается в тех случаях, когда клетки вначале развиваются при менее благоприятных условиях, а затем переводятся в более благоприятные для них условия культивирования. Как было показано выше, это явление наблюдалось в случае изменения температуры.



Брожение, проведенное на пивном сусле (15—16° Балг.) двумя термофильными расами дрожжей, адаптированными к 40° и 44° (температура опыта 39—40°)

а — количество образовавшегося спирта, *б* — количество дрожжевых клеток; *1* — контроль: брожение, проведенное на пивном сусле термофильными дрожжами, адаптированными к 40°; *2* — опыт: брожение, проведенное на пивном сусле термофильными дрожжами, адаптированными к 44°

Нам представляется, что некоторую аналогию мы можем провести с такого рода явлением, как предпосевная закалка семян против засухи, мороза и других действующих на клетку факторов.

В настоящее время доказано (Генкель [1]), что растения, которые получают предпосевную закалку, значительно лучше переносят действие различных неблагоприятных факторов. Такая даже кратковременная обработка сопровождается рядом морфо-физиологических изменений у растения. В частности известно, что при этом процессе ускоряется обмен веществ.

Выводы

1. При сбраживании высококонцентрированного пивного сусла при температуре 39—40° двумя термофильными расами дрожжей (адаптированными к 40° и 44°) было установлено, что процесс размножения и бро-

жения проходил интенсивнее у дрожжей, которые предварительно выращивались при более высокой температуре (44°).

2. Опыты, проведенные с двумя термофильными формами дрожжей на среде, содержащей низкие концентрации сахара, не дали заметных различий в активности у указанных рас дрожжей.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 21.X.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Генкель П. А. Устойчивость растений к засухе и пути ее повышения. Тр. Ин-та физиологии растений им. К. А. Тимирязева, V, вып. 1, 1946.
2. Логинова Л. Г. Адаптация дрожжей. Брожение, вызываемое дрожжами, адаптированными к высокой температуре. Микробиология, XVII, вып. 1, 1948.

ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ СКЛАДЧАТЫХ ВАРИАНТОВ ДРОЖЖЕЙ НА АГАРИЗОВАННЫХ СРЕДАХ

Ю. Н. Карасевич

За последнее время опубликованы работы, в которых указывается, что между складчатыми и гладкими вариантами одной и той же расы дрожжей могут наблюдаться значительные физиологические различия, причем выявление этих различий в значительной степени зависит от условий культивирования. Установлено, например, что различие в скорости роста складчатых и гладких вариантов дрожжей наблюдается лишь в аэробных условиях культивирования и не наблюдается в анаэробных [1, 3].

Целью этих исследований являются поиски связи между измененной физиологией и морфологическими особенностями микроорганизма, что необходимо не только для решения общебиологического вопроса о взаимосвязи формы и функции, но и для облегчения селекции полезных микроорганизмов.

В данной работе исследуется влияние условий культивирования на морфологические и физиологические особенности складчатых вариантов дрожжей Saccharomyces cerevisiae (Ростовская раса). Были взяты две складчатые формы $АН_2$ и М3 и одна гладкая — М2. Исследовались скорость накопления биомассы и экономичность потребления сахара.

Основные исследования проведены со складчатой формой М3. Форма $АН_2$ служила для дополнительной проверки. У нее определялась только скорость накопления биомассы. По этому признаку обе складчатые формы почти всегда вели себя одинаково. Случаи, когда по этому признаку наблюдалось различие между формами М3 и $АН_2$, оговорены в тексте.

Основной средой для опытов служила синтетическая среда Ридер следующего состава (в граммах): $(NH_4)_2SO_4$ — 3; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,7; NaCl — 0,5; $Ca(NO_3)_2$ — 0,4; глюкозы — 60; KH_2PO_4 — 1; K_2HPO_4 — 0,1; воды водопроводной, проавтоклавированной — 1 л; агар-агара — 2%; pH доводился до 6,5.

В качестве источника витаминов в среду вносилось 3 мл 30%-ного дрожжевого автолизата.

В чашки Петри диаметром 7 см пипеткой наливалось одинаковое количество агаризованной среды, обычно 11—12 мл.

Чашки подсушивались два дня при комнатной температуре, а затем в центр пластинки агара петлей наносилась густая взвесь клеток дрожжей из односуточной культуры гладкой или складчатой формы. Чашки помещались в эксикатор, на дно которого наливалось немного воды с целью предотвратить высыхание агара. Аэрация культур обеспечивалась благодаря отверстию в крышке эксикатора. Продолжительность каждого опыта 12 дней. Спустя этот срок колония петлей переносилась на стеклянный фильтр № 4, промывалась и высушивалась при 100° до постоянного веса. На каждый фильтр снимались две колонии. Затем агар тщательно измельчался, переносился в колбу и заливался водой для экстрагирования сахаров. В каждую колбу вносился агар из двух чашек, соответствовавшим колониям на фильтре.

Экстрагирование проводилось в присутствии толуола, при температуре 50°, в течение суток. Затем измельченный агар отфильтровывался на воронке Бюхнера под вакуумом (для ускорения фильтрации и удаления толуола) и промывался до отрицательной реакции на сахара как в филь-

трате, так и в агар-агаре. Сахара определялись методом Бертрана. Определение производилось в контрольных чашках и в опыте. Потребленный сахар высчитывался по разности этих двух цифр. Опыты проводились при температуре 27°.

Экспериментальная часть

При росте гигантских колоний дрожжей Ростовской расы Saccharomyces cerevisiae на сусло-агаре в аэробных условиях наблюдаются определенные морфологические и физиологические различия между гладкими и складчатыми вариантами [1, 3]. Колонии гладкой формы имеют ровную, блестящую поверхность и правильные края, тогда как колонии складчатой формы имеют морщинистую, матовую поверхность и изрезанные края. За одинаковый промежуток времени складчатая форма накапливает на 60—70% больше биомассы и потребляет примерно на 30% больше сахара. Экономический коэффициент у нее на 36% выше [3].

Таблица 1

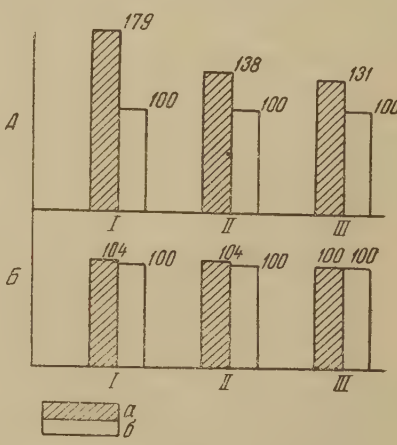
Накопление биомассы в колониях складчатой и гладкой форм Saccharomyces cerevisiae (Ростовская раса М3) на синтетической среде с $(NH_4)_2SO_4$ в качестве источника азота

(Среднее из трех опытов)

Определяемые данные	Складчатая форма	Гладкая форма
Диаметр колоний в мм	14,6	14,2
Вес накопленной биомассы в мг на чашку	27,4	26,3
% накопленной биомассы	104	100
Потребление сахара в мг на чашку	266,8	256,2
Экономический коэффициент . .	10,26	10,26

При культивировании дрожжей Saccharomyces cerevisiae (Ростовская раса) на синтетической среде Ридер с сернокислым аммонием в качестве источника азота эти морфологические и физиологические различия между гладкими и складчатыми вариантами почти полностью исчезают. Накопленная биомасса, так же как количество потребленного сахара и экономические коэффициенты примерно одинаковы у складчатой и гладкой форм (табл. 1, см. рисунок).

Если же заменить сернокислый аммоний на глютаминовую или аспарагиновую кислоту, морфологические и физиологические различия неблюдаются так же отчетливо, как при росте на сложных органических средах. Например, при росте на среде с глютаминовой кислотой складчатая форма накапливает на 79% больше биомассы и потребляет на 38% больше сахара. Экономический коэффициент складчатой формы на 31% выше (табл 2, см. рисунок). Дрожжи складчатой формы накапливают бо́льшую биомассу, если сернокислый аммоний заменить пептоном, яблочнокислым аммонием, янтарнокислым аммонием, мочевиной (табл. 3).



Развитие складчатой и гладкой форм Saccharomyces cerevisiae (Ростовская раса) на синтетической среде с различными источниками азота (данные в %)

А — глютаминовая кислота, *Б* — $(NH_4)_2SO_4$; *I* — накопленная биомасса, *II* — потребленный сахар, *III* — экономический коэффициент; *а* — складчатая, *б* — гладкая

Этому явлению можно дать два объяснения. Во-первых, можно предположить, что замена в синтетической среде минерального источника азота на органический улучшает развитие складчатых форм дрожжей и

Таблица 2

Накопление биомассы в колониях складчатой и гладкой форм Saccharomyces cerevisiae (Ростовская раса М3) на синтетической среде с глютаминовой кислотой в качестве источника азота

(Среднее из четырех опытов)

Определяемые данные	Среда с глютаминовой кислотой		Среда с $(NH_4)_2SO_4$ (контроль)	
	складчатая форма	гладкая форма	складчатая форма	гладкая форма
Диаметр колоний в мм	23,5	14,7	14,1	13,6
Вес накопленной биомассы в мг на чашку . .	58,7	32,7	26,7	26,6
% накопленной биомассы	179	100	100	100
Потребление сахара в мг на чашку	348,6	252,6	—	—
Экономический коэффициент	18,7	14,2	—	—

Таблица 3

Накопление биомассы в колониях складчатой и гладкой форм Saccharomyces cerevisiae (Ростовская раса М3) на синтетической среде с различными источниками азота

(Среднее из двух опытов)

Источник азота	Накопленная биомасса в мг		Накопленная биомасса в %	
	складчатая	гладкая	складчатая	гладкая
Пептон	48,9	34,3	143	100
Янтарнокислый аммоний	39,7	24,8	160	100
Яблочнокислый аммоний	41,2	26,4	156	100
Мочевина	28,3	20,6	137	100
$(NH_4)_2SO_4$ (контроль)	22,4	21,0	106	100

позволяет им полнее реализовать свои наследственные возможности. Так, на зависимость формы колонии от концентрации органических соединений в среде указывают Касаткина [4] и Курочкин [5].

Во-вторых, можно предположить, что исчезновение интересующих нас различий на среде с сернокислым аммонием зависит от подкисления среды освобождающимся при потреблении аммония ионом SO_4''. В процессе роста дрожжей pH такой среды снижается приблизительно до 3,5. На других испытывавшихся источниках азота такого сильного подкисления не происходит. Для проверки первого предположения были поставлены опыты на среде следующего состава (в граммах): $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,7; NaCl — 0,5; $Ca(NO_3)_2$ — 0,4; глюкозы — 60; K_2HPO_4 — 0,2; $(NH_4)_2HPO_4$ — 2; воды дестиллированной — 1 л.

В качестве источника витаминов давался дрожжевой автолизат; pH этой среды в течение опыта меняется сравнительно слабо.

Оказалось, что дрожжи на этой среде развиваются так же, как на средах с органическими источниками азота, т. е. складчатые формы отличаются от гладкой морфологически и быстрее накапливают биомассу.

Для проверки предположения, что ответственным за наблюдавшиеся особенности роста складчатых форм является подкисление среды, мы поставили опыты на сусло-агаре, подкисленном H_2SO_4 до pH = 3,2—3,7. Определение pH производилось потенциометрически и при помощи индикаторов. Установлено, что на подкисленном сусло-агаре морфологические различия складчатых и гладкой форм, в значительной степени сглажи-

ваются. Особенно отчетливо это наблюдается у формы $АН_2$. У формы М3 сохраняется небольшая складчатость в центре колонии при pH = 3,7. На не подкисленном сусло-агаре всегда сохраняется резкое морфологическое различие между складчатыми и гладкой формами. Скорость роста складчатых форм при росте на подкисленном сусло-агаре резко снижается (табл. 4).

Таблица 4

Накопление биомассы в колониях складчатых и гладкой форм Saccharomyces cerevisiae (Ростовская раса М3) на сусло-агаре в зависимости от pH среды

(Среднее из трех повторностей)

Культуры	Опыт 1 (pH = 3,2)		Опыт 2 (pH = 3,2)		Опыт 3 (pH = 3,7)	
	вес накопл. биомассы в мг	% накопл. биомассы	вес накопл. биомассы в мг	% накопл. биомассы	вес накопл. биомассы в мг	% накопл. биомассы
$АН_2$	—	—	18,0	73	28,1	82
М3	23,1	91	22,6	91,8	41,4	121
М2	25,3	100	24,6	100	34,0	100
Контроль $АН_2$	—	—	43,1	129	53,2	144
Контроль М3	60,8	154	55,3	166	57,2	155
Контроль М2	39,5	100	33,3	100	36,9	100

Кроме того, если на обычном сусло-агаре складчатые формы накапливают бо́льшую биомассу, чем гладкая, то на подкисленном сусло-агаре обычно наблюдается обратная картина: складчатые формы накапливают меньшую биомассу. Исключение составляет форма М3, которая при pH = 3,7 накопила на 21% больше биомассы, чем гладкая. Обе складчатые формы вели себя в этих опытах по-разному. Форма $АН_2$ более чувствительна к подкислению среды, чем М3, так как последняя при pH = 3,7 сохраняет некоторые признаки, характерные для роста складчатой формы на обычном сусло-агаре, чего не наблюдалось у $АН_2$.

Следовательно, одной из основных причин исчезновения морфологических и физиологических различий между складчатыми и гладкой формами Saccharomyces cerevisiae (Ростовская раса), при росте на синтетической среде Ридер с сернокислым аммонием, является подкисление среды, образующейся при потреблении иона аммония серной кислотой.

Исчезновение морфологических особенностей складчатой формы при росте на синтетической среде Ридер с сернокислым аммонием мы наблюдали и у некоторых других дрожжей, например у Rhodotorula gracilis. У складчатых вариантов дрожжей Saccharomyces cerevisiae (раса № 1 ВНИИСП и раса 9/5) морфологические и физиологические особенности в этом случае в значительной степени сохраняются.

Наличие сходной реакции складчатых вариантов далеко отстоящих друг от друга видов дрожжей, равно как и различная реакция близких рас дрожжей на изменение pH среды представляют определенный интерес. На основании этого можно предположить, что различные складчатые варианты возникают в результате разнообразных физиологических изменений однако в равной степени вероятно, что неодинаковая реакция зависит от видовых и расовых особенностей дрожжей и, варьируя pH среды, можно будет получить сходную реакцию всех складчатых форм. Например, у дрожжей Ростовской расы наблюдалось нечто подобное при pH = 3,2, хотя при pH = 3,7 имело место некоторое различие между двумя складчатыми формами.

Всестороннее исследование влияния pH среды на особенности развития складчатых форм приблизит решение вопроса о механизме, лежащем в основе морфологических изменений складчатых вариантов дрожжей.

Выводы

1. При культивировании складчатых и гладкой форм Saccharomyces cerevisiae (Ростовская раса) на агаризованной синтетической среде Ридер с сернокислым аммонием в качестве источника азота наблюдается почти полное исчезновение морфологических и некоторых физиологических различий между этими формами.

2. При культивировании дрожжей Saccharomyces cerevisiae Ростовской расы на синтетической среде с глютаминовой кислотой, аспарагиновой кислотой, янтарнокислым аммонием, яблочнокислым аммонием, мочевиной, фосфорнокислым аммонием отчетливо выявляются как морфологические, так и физиологические различия складчатых и гладкой форм.

3. Установлено, что исчезновение различий между складчатыми и гладкой формами дрожжей Saccharomyces cerevisiae Ростовской расы не зависит от недостатка каких-то питательных веществ в синтетической среде Ридер.

4. Исчезновение интересующих нас различий между складчатыми и гладкой формами дрожжей Saccharomyces cerevisiae Ростовской расы при росте на синтетической среде с сернокислым аммонием зависит в основном от сильного подкисления среды освобождающимися ионами SO''_4.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 22.X.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Имшенецкий А. А. О накоплении биомассы в культурах складчатой формы Saccharomyces cerevisiae. Микробиология, XXI, 3, 1952.
2. Карасевич Ю. Н. Влияние азотистого питания на характер роста складчатой и гладкой форм Saccharomyces cerevisiae. ДАН СССР, LXXXIX, 741, 1953.
3. Карасевич Ю. Н. О росте складчатой и гладкой форм Saccharomyces cerevisiae в аэробных и анаэробных условиях. Тр. Ин-та микробиологии АН СССР, 3, 68, 1954.
4. Касаткина И. Д. К физиологической характеристике гладких и складчатых форм Penicillium chrysogenum. Микробиология, XXI, 548, 1952.
5. Курочкин Т. (Kurotchkin T.). Variation of colonial characters of certain yeast-like fungi. Chinas Med. J. Suppl., 1, 171, 1936.

РАСЩЕПЛЕНИЕ МОЧЕВИНЫ У БАКТЕРИЙ КАК ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ПРОЦЕСС

В. И. Любимов

До настоящего времени весьма распространен взгляд, что расщепление мочевины бактериями представляет собой внеклеточный процесс, катализируемый ферментом уреазой, которую бактерии при жизни выделяют в окружающую среду. Взгляд этот опирается на опыты, проведенные Микелем (Miquel [9]) в прошлом столетии, в которых было показано, что фильтраты 48-часовых и более старых культур уробактерий способны расщеплять мочевину. Хотя позднее эти опыты не подтвердились [8] и было установлено, что уреаза прочно связана с протоплазмой клеток и извлекается лишь после их высушивания [10], результаты, полученные Микелем, считались бесспорными [4] и использовались для теоретического обоснования физиологического [5] и экологического [7] значения процесса расщепления мочевины в жизни бактерий.

Изучая ферментативные свойства «активного ила», который весьма энергично расщепляет мочевину, мы обнаружили, что вся уреазная активность локализована в его «твердой», а не жидкой фазе [2]. Этот факт еще не указывает на то, что обитающие в активном иле микроорганизмы, а в том числе и бактерии, не выделяют уреазу в окружающую среду, поскольку активный ил обладает сильными адсорбционными свойствами. Поэтому локализация процесса расщепления мочевины была изучена в чистых культурах расщепляющей мочевину бактерии, изолированной из активного ила. Для выделения бактерии была использована примененная ранее для аналогичной цели Мишустиным [4] жидкая синтетическая среда, содержащая в качестве источника азота мочевину, а углерода — уксуснокислый натрий. После высева на мясо-пептонный агар накопительных культур, полученных из предельных разведений активного ила, был выделен аэробный грамположительный микроорганизм, расщеплявший мочевину и представляющий собой кокк размером 0,8—1,0 μ. Кокк лучше всего растет на минеральных средах с pH = 6,8—8,5, используя в качестве источника углерода соли янтарной и уксусной кислот, но не глюкозу; молоко не изменяет, слабо восстанавливает нитраты в нитриты, желатину не разжижает. Мы идентифицировали микроорганизм как Micrococcus ureae Cohn.

Выращивание Micrococcus ureae

Стремясь получить питательную среду, почти не содержащую осадка труднорастворимых солей, мы несколько изменили ее первоначальный состав, после чего на 1 л дестиллированной воды она содержала: K_2HPO_4 — 0,5 г; $MgSO_4$ — 0,1 г; $MnSO_4$ — 0,01 г; $FeSO_4$ — следы; NaCl — 0,3 г; $(NH_4)_2SO_4$ — 0,2 г; ацетата натрия — 5 г и стерилизованной фильтрованием мочевины — 20 г.

Предварительные опыты показали, что вскоре, после начала размножения клеток среда подщелачивается до pH ~ 10 и дальнейший рост культуры прекращается. Кроме того, при щелочной реакции инактивируется один из предметов нашего исследования — уреаза [6]. Поэтому при выращивании микрококка методом глубинной культуры [1] мы стара-

лись поддерживать pH питательной среды около 7,0—7,5, добавляя к ней стерильный раствор уксусной кислоты. Сразу после засева среды в нее вносился стерильный насыщенный водный раствор нейтрального красного (0,5 мл на 500 мл), что позволяло следить за изменением pH среды по изменению ее окраски. Индикатор не угнетал размножения клеток. При глубинном способе выращивания имеется возможность получать физиологически более однотипные клетки, нежели в стоячих культурах,

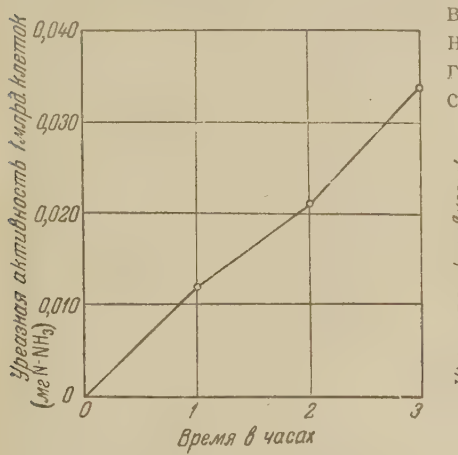


Рис. 1. Ход гидролиза мочевины суспензией клеток Micrococcus ureae во времени

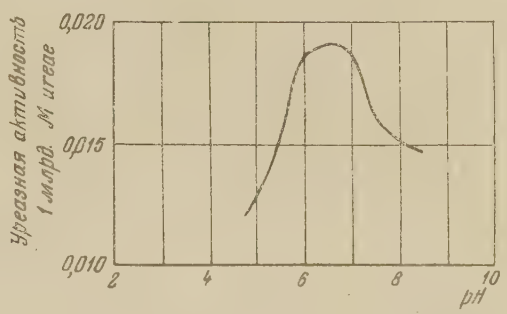


Рис. 2. Зависимость уреазной активности суспензий клеток Micrococcus ureae от pH

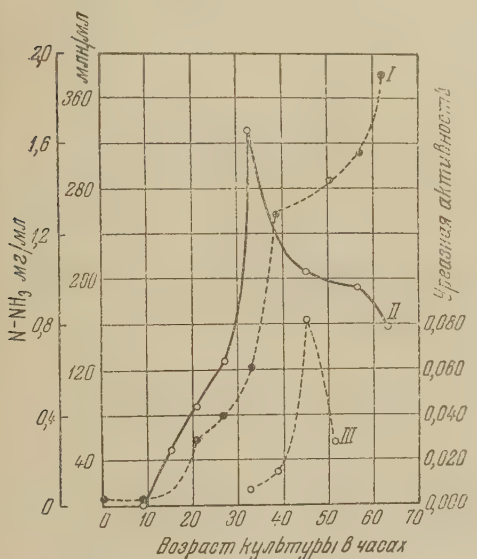


Рис. 3. Уреазная активность фильтрата культур Micrococcus ureae разного возраста

I — NH_3 в культуре (мг/мл); *II* — количество бактерий в миллионах на 1 мл; *III* — уреазная активность 1 мл фильтрата культуры

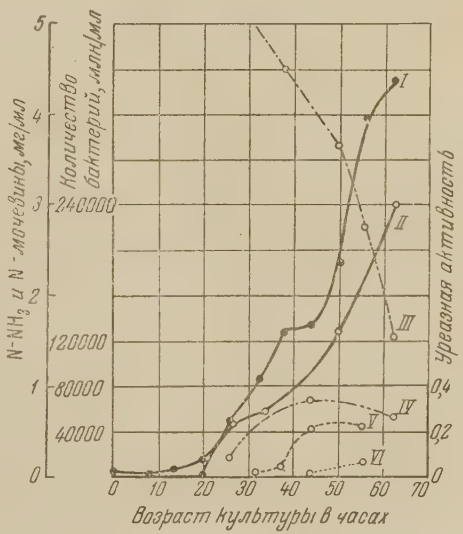


Рис. 4. Уреазная активность «бактериальных тел» и фильтрата культур Micrococcus ureae разного возраста

I — NH_3 в культуре (мг/мл); *II* — количество бактерий в миллионах на 1 мл; *III* — N мочевины мг/мл; *IV* — 1 мл цельной культуры; *V* — бактериальных тел, содержащихся в 1 мл культуры; *VI*—1 мл фильтрата культуры

и материал для анализов в разные сроки брать из одного и того же сосуда.

В ходе опытов определялись: общее количество бактериальных клеток подсчетом в окрашенных по Граму препаратах, содержание NH_3 в

среде, уреазная активность фильтрата культуры и «бактериальных тел» (промытый осадок после центрифугирования культуры). Мерой уреазной активности служило количество NH_3 (в мг), освобождаемого из 1%-ного раствора мочевины в фосфатном буфере (pH = 6,4) за 2 часа при 20°. Ферментативные опыты и определения NH_3 производились в парафиновых чашках, применяемых для определения NH_3 диффузионным методом [1]. Во внешнюю камеру чашки помещались 1 мл 2%-ного раствора мочевины и 1 мл испытуемого материала (фильтрат культуры, суспензия отмытых клеток). Некоторые условия определения уреазной активности были найдены в предварительных опытах, результаты которых графически приведены на рис. 1 и 2.

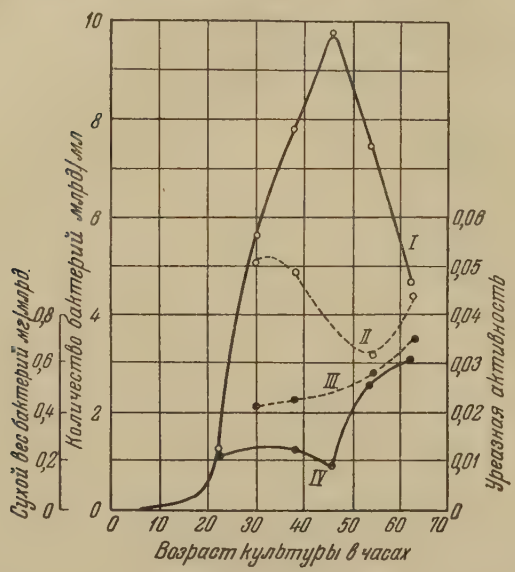


Рис. 5. Уреазная активность «бактериальных тел» Micrococcus ureae разного возраста:

I — количество бактерий в культуре в миллиардах на 1 мл; *II* — уреазная активность 1 мг сухого вещества бактерий; *III* — вес 1 млрд. клеток; *IV* — уреазная активность 1 млрд. клеток

Проводя первые опыты по образованию уреазы Micrococcus ureae при выращивании его методом глубинной культуры, мы находились под некоторым влиянием представления о внеклеточной локализации фермента, активность которого поэтому определяли только в фильтрате культуры. Результаты одного из таких опытов даны на рис. 3.

Из данных рис. 3 явствует, что уреаза в фильтрате культуры начинает обнаруживаться лишь после того, как количество клеток начинает снижаться, т. е. после отмирания и распада клеток. При этом в условиях непрерывного продувания культуры воздухом поступившая в окружающую среду уреаза сравнительно быстро инактивируется. Результаты более развернутого опыта представлены на рис. 4.

Как видно из данных рис. 4, уреаза в фильтрате культуры начала обнаруживаться еще в период активного роста культуры, но и в этом случае уреазная активность клеток, содержавшихся в 1 мл культуры, была почти в 10 раз выше, чем уреазная активность 1 мл фильтрата. Таким образом, бо́льшая часть уреазы в культурах M. ureae связана с клетками. При выяснении возрастных изменений уреазной активности бактериальных тел в дальнейшем при определении уреазной активности бактериального осадка, получаемого путем центрифугирования культуры разного возраста, наряду с количеством клеток, вносимых в реакционную смесь, учитывался и сухой вес вносимого осадка. Результаты такого опыта приведены на рис. 5.

Данные рис. 5 показывают, что уреазная активность бактериальных тел (в расчете на 1 млрд. клеток) в фазе логарифмического роста культуры почти не изменяется, но резко возрастает в фазе логарифмической гибели клеток. Уреазная активность бактериальных тел, отнесенная к их сухому весу, начинает падать во второй половине фазы логарифмического роста. Расчеты веса 1 млрд. клеток указывают на его «увеличение» с возрастом культуры, особенно в период ее отмирания. Описанные явления, повидимому, могут быть объяснены следующим образом. В фазе логарифмического отмирания клеток вносимый в реакционную

смесь материал (бактериальные тела) состоит из живых и мертвых клеток, а также бактериального детрита. Рассчитывая уреазную активность на 1 млрд. клеток, окрашивающихся по Граму, мы получаем искаженное представление, так как, повидимому, отмершие клетки и их фрагменты также содержат фермент. Таким же образом объясняется и «увеличение» веса 1 млрд. клеток в отмирающей культуре.

Локализация уреазы в культурах Proteus vulgaris

Для сравнения нами были проведены опыты с Proteus vulgaris, который образует значительно больше уреазы, чем Micrococcus ureae. Культура выращивалась на мясо-пептонном бульоне в условиях покоя. Количество бактерий определялось по стандарту мутности. Результаты одного из опытов приведены в таблице.

Локализация уреазы в культурах Proteus vulgaris

Возраст культуры в часах	Количество бактерий млрд/мл	Уреазная активность	
		1 млрд. клеток	1 мл фильтрата культуры
10	1	0,074	0,000
14	2	0,070	0,003
18	3	0,075	0,000
22	3	0,051	0,003

В культурах Proteus vulgaris практически вся уреаза связана с телами бактерий. Иногда удается обнаружить лишь ничтожную уреазную активность фильтрата культуры.

Сообщенные выше экспериментальные результаты указывают, что образуемая Micrococcus ureae и Proteus vulgaris уреаза прижизненно не выделяется из клеток в окружающую среду. Следовательно, и расщепление мочевины бактериями представляет собой внутриклеточный процесс.

Выводы

1. Бо́льшая часть уреазы, синтезируемой культурами Micrococcus ureae и Proteus vulgaris, связана с бактериальными клетками и их фрагментами, образующимися при отмирании и распаде клеток. Обе эти культуры прижизненно не выделяют уреазу в окружающую среду.
2. Незначительная уреазная активность фильтратов бактериальных культур обнаруживается лишь в периоды массового отмирания клеток.
3. Расщепление мочевины живыми бактериальными клетками является внутриклеточным процессом.

Люберецкая лаборатория
Научно-исследовательского отдела
треста «Мосочиствод»

Получено 9.IX.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Любимов В. И. Микроаэратор — прибор для физиологических исследований аэробных микроорганизмов. Микробиология, XXIII, 584. 1954.
2. Любимов В. И. и Каган З. С. Адсорбция ферментов активным илом. Гигиена и санитария, № 1, 16, 1955.
3. Мешкова Н. П. и Северин С. Е. Практикум по биохимии животных, 1950.
4. Мишустин Е. Н. Изучение физиологических особенностей разлагающих мочевину бактерий в связи с почвенно-микробиологическими исследованиями. Микробиология, I, 306, 1932.
5. Мишустин Е. Н. О физилогическом значении процесса разложения мочевины. Архив биол. наук, **43**, № 2/3, 165, 1936.
6. Самнер Д. В. и Сомерс Г. Ф. Химия ферментов и методы их исследования, 1948.
7. Худяков Н. Н. Сельскохозяйственная микробиология. Гостехиздат, 1926.
8. Beijerinck M. W. Anhäufungsversuche mit Ureumbakterien. Ureumspaltung durch Urease und durch Katobolismus. Ztbl. Bakt., II, **7**, 33, 1901.
9. Miquel P. Цит. по кн.: «Die Vergärung des Harnstoffes, der Harnsäure und der Hippursäure», Handb. der techn. Mycologie, hrsg. von Lafar, III, 71, 1904—1906.
10. Takahata T. Über die Gewinnung einer Urease-Enzymlösung aus Bakterien. Biochem. Z. **140**, Nr. 1/3, 168, 1923.

О ПЕРИОДИЧНОСТИ РАЗМНОЖЕНИЯ И ГАЗООБРАЗОВАНИЯ ДРОЖЖЕЙ В ЖИДКОЙ КУЛЬТУРЕ

А. Л. Ерусалимский

В доступной нам литературе мы не могли обнаружить ни высказываний, ни экспериментальных данных о такой, не лишенной, повидимому, известного интереса, закономерности развития дрожжей, как периодичность размножения и волнообразные изменения в образовании ими газа в жидкой культуре. Между тем знание этих закономерностей необходимо для правильного анализа изменений, происходящих в жидкой дрожжевой культуре по мере ее развития, а также вследствие различных внешних воздействий.

Нам пришлось заняться изучением детальных закономерностей размножения и газообразования у дрожжей в связи со следующими обстоятельствами.

Изучая биологические методы диагностики рака, мы предприняли испытание и проверку газометрической методики определения открытых Гурвичем митогенетических лучей, стимулирующих размножение. Эта методика была представлена и разработана Зибертом и Зеффертом (Siebert u. Seffert [11]. Она основана на измерении в динамике (постоянная регистрация) количества газа, образующегося при брожении жидкой дрожжевой культуры.

Культура, служащая детектором, т. е. уловителем излучения, помещается в закрытый сосуд с кварцевым донышком (кварц, как известно, пропускает митогенетические, т. е. ультрафиолетовые лучи). Сосуд соединен с градуированной капиллярной трубкой, внутри которой имеется окрашенная жидкость.

Образующийся в процессе жизнедеятельности дрожжей газ оттесняет жидкость. Передвижение уровня жидкости показывает количество газа.

Аппарат Зиберта и Зефферта состоит из изолированных друг от друга систем, в которых газообразование происходит совершенно одинаково. Помещая под кварцевое дно одной из них источник митогенетического излучения, например свежеизвлеченную кровь, авторы отмечали, что газообразование в этой системе начинает отличаться от газообразования в соседних — контрольных системах.

Однако это отличие было неодинаковым, нестандартным. В ряде случаев авторы наблюдали усиление газообразования, в других случаях — ослабление, а в некоторых — усиление, сменявшееся ослаблением.

Этой нестандартности эффекта авторы уделяли мало внимания. Они объясняли ее «вариациями количества, температуры, длительности подготовительного периода», т. е. фактически не давали ей никакого конкретного объяснения.

Зибертом и Зеффертом был представлен большой материал — около 500 опытов с различными результатами (т. е. иногда усиление газообразования, иногда — ослабление и т. д.).

Приступив к проверке методики Зиберта и Зефферта, мы прежде всего коренным образом изменили конструкцию газометрического аппарата. Наш аппарат несравненно проще и доступнее для изготовления, чем аппарат немецких авторов. Чувствительность аппарата достаточно велика — он отмечает изменения объема газа с точностью до 0,5 мм^3.

Схема наших опытов существенно отличалась от схемы опытов Зиберта и Зефферта: мы не облучали культуру, что стимулировало бы ее размножение, а наоборот, добавляли к культуре тушитель митогенетического излучения, что должно было тормозить размножение дрожжей. Таким образом, воздействие на размножение дрожжей в наших опытах было противоположным тому, какое имело место в опытах Зиберта и Зефферта.

На материале в несколько десятков опытов мы могли убедиться, что добавление тушителя к культуре дрожжей вызывает иногда усиление, а иногда — ослабление газообразования. Эти данные соответствовали данным немецких авторов.

Таким образом, можно было констатировать, что однозначное воздействие на размножение дрожжевой жидкой культуры — в одной серии опытов стимулирующее, в другой угнетающее — вызывает иногда усиление, а иногда ослабление газообразования.

Е. А. Плевако, к которой мы обратились за консультацией, высказала предположение о периодичности размножения дрожжей и волнообразных изменениях газообразования их как причине такой нестандартности эффекта.

Если бы предположение Плевако о периодичности размножения дрожжей оправдалось, то указанная нестандартность изменений газообразования от однозначного воздействия на размножение стала бы совершенно понятной.

Так, например, добавление тормозящего размножение вещества (в наших опытах — тушителя митогенетического излучения) дало бы противоположный эффект в зависимости от периода размножения, в котором добавлено это вещество.

Добавление тушителя в периоде массового размножения «зафиксировало» бы на некоторое время, т. е. растянуло бы во времени, эту фазу жизнедеятельности дрожжей. Между тем соседние — контрольные культуры перешли бы в другую фазу — в фазу покоя. В результате в газообразовании этих культур появилось бы известное различие.

Это различие, т. е. эффект от воздействия на культуру, было бы прямо противоположным, если бы соответствующее влияние (в нашем примере — угнетение размножения) было оказано в фазе покоя. В таком случае был бы растянут во времени период покоя с присущим ему биохимизмом, в то время как контрольные культуры перешли бы в другую фазу — фазу массового размножения.

Аналогичное рассуждение полностью применимо и для случая, когда на культуру действует фактор, стимулирующий размножение. Но в этом случае, естественно, речь шла бы не о продлении, а о сокращении того периода, во время которого оказано воздействие.

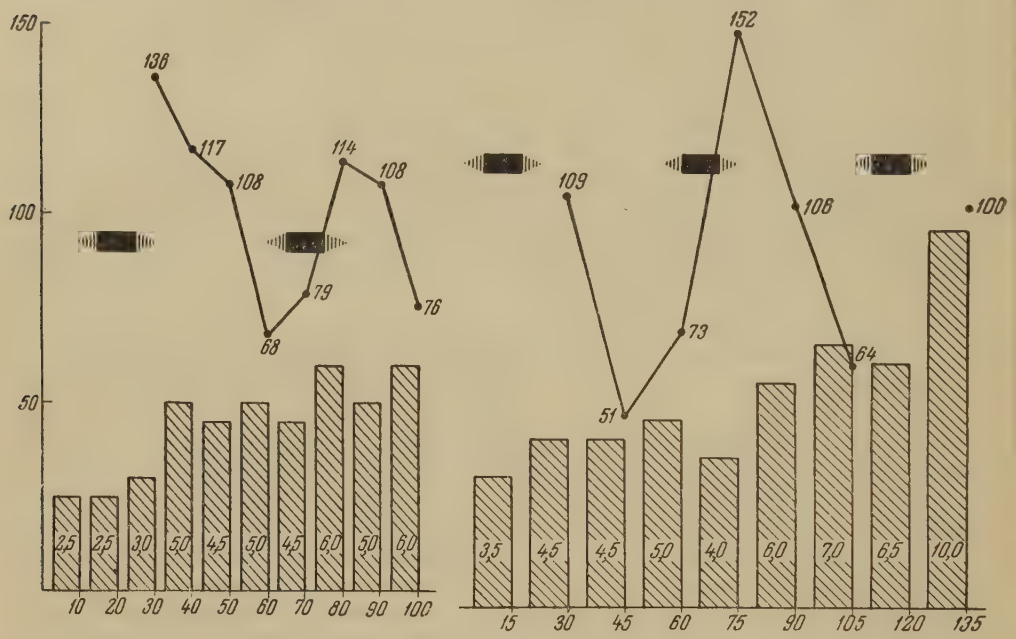
Настоящее исследование предпринято с целью изучения детальных закономерностей размножения и газообразования дрожжей в жидкой культуре.

Работа велась с культурой дрожжей XII расы, полученной в Центральной научно-исследовательской лаборатории бродильной промышленности. С косого агара дрожжи пересевались на стерильное неохмеленное сусло крепостью 17,0—17,2° Балг. С двухсуточной культуры на сусле или после еще одного-двух двухсуточных пассажей на сусле дрожжи брались в опыт.

Для этого с двухсуточного пассажа дрожжи снова пересевались в сусло, причем пересеваемая культура разводилась в 10 или 15 раз. Через 40—60 минут, после подсчета в камере Бюркера, эта культура — мы называем ее «маточной взвесью» — разводилась в 3—6 раз (до густоты в 2000—5000 клеток в мм^3) дрожжевым бульоном, содержащим 5% глюкозы. В результате получалась «рабочая» культура.

Опыт заключался в следующем.

Рабочая культура разливалась равными порциями в большое число бутылкообразных колбочек одинакового объема. При всех манипуляциях: разливании культуры по колбочкам, взятии пробы для счета и т. д. строго соблюдалась стандартность движений, колбочки и пробирки встряхивались одинаковым образом одинаковое число раз и т. д. Шесть колбочек присоединялись к газометрическому аппарату и служили резервуарами, где выделялся измеряемый газ. Другие колбочки, закрытые ватны-



На оси абсцисс — время (в 1 мм 1 минута). Столбики показывают количество газа (10 мм 1 мм³), выделившееся за каждый данный период времени, в одном опыте — 10-минутный, в другом — 15-минутный. Количество газа обозначено цифрами внутри столбиков. Кривая показывает количество почек на 500 клеток (подсчет велся в одном опыте каждые 10, в другом — каждые 15 минут).

Черными прямоугольниками отмечены периоды «массового размножения», точнее — «биохимическая фаза» их, которой обычно соответствует некоторое понижение газообразования

ми тампонами, помещались в термостат, в котором поддерживалась такая же температура, в какой находились колбочки газометрического аппарата (от 28 до 30°).

После соответствующих манипуляций аппарат включался, и показания его регистрировались каждые 10 минут (в одном опыте — каждые 15 минут). Одновременно с каждой регистрацией из термостата извлекалась колбочка, и проба из нее тотчас фиксировалась добавлением 4%-ного раствора формалина.

Затем подсчитывалось число почек[1] на 500 клеток. В части опытов подсчет производился сотрудником, не осведомленным о цели исследования и об ожидаемых результатах. Данные о числе почек наносились на график рядом с кривой газообразования. Таким образом, через каждые 10 минут мы получали данные о газообразовании культуры и одновременно об интенсивности ее размножения (о количестве почек, т. е. фигур деления в данный момент).

Нами произведено шесть таких опытов. Результаты их однозначны. Нужно указать, что газометрический аппарат состоит из шести изолиро-

[1] Мы произвели измерение величины клеток и почек при помощи винтового окуляр-микрометра АМ-9-2. Средние данные многих измерений: диаметр клетки — 6,3 μ, диаметр максимальных почек — 2,1 μ.

ванных друг от друга систем и что мы считали достоверным лишь тот опыт, в котором по меньшей мере в пяти из шести систем газообразование происходило совершенно одинаково. Таким образом, волнообразные изменения газообразования в этой серии опытов зарегистрированы в 33—34 системах из 36.

Для каждого опыта выводилась «средняя кривая газообразования». Для расчета каждого отрезка такой кривой бралось среднее арифметическое из показаний всех шести систем аппарата за данный период (десятиминутный). Расчет производился с точностью до 0,5 мм³.

Данные двух наших опытов представлены на приводимом рисунке. Остальные опыты дали аналогичные результаты.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что размножение дрожжей в жидкой культуре происходит периодами.

Во время «периода массового размножения» можно констатировать одновременно деление $^1/_4$ или даже $^1/_3$ всех клеток (до 150, а в других опытах и до 180 почек на 500 клеток). Во время «периода покоя» можно констатировать одновременное деление лишь $^1/_7$—$^1/_{10}$ всех клеток (50—80 почек на 500 клеток).

Период массового размножения, если включить в него время, необходимое для вырастания почек и превращения их в клетки, в 1,5—2 раза короче периода покоя. Период массового размножения и период покоя составляют вместе цикл размножения. Длительность циклов размножения неодинакова: первый цикл длится 45—55 минут, в дальнейшем длительность циклов увеличивается — каждый следующий цикл длиннее предыдущего.

Соответственно смене периодов размножения можно отметить волнообразные изменения газообразования.

Конечно, по мере роста культуры, т. е. увеличения массы дрожжей, газообразование становится все более интенсивным, выделяется все большее количество газа. Но на фоне этого увеличения хорошо видны волнообразные изменения, придающие кривой газообразования ступенеобразный характер и сводящиеся к следующему.

В течение периода покоя газообразование почти не изменяется. Во время, непосредственно предшествующее появлению видимых признаков периода массового размножения, газообразование обычно несколько ослабевает. Тотчас, вслед за этим, газообразование резко усиливается — это происходит обычно тогда, когда уже имеются видимые признаки периода массового размножения — большое число почек. На этом уровне газообразование остается во время периода покоя до следущего периода массового размножения, перед которым, как указано выше, наблюдается некоторое ослабление газообразования.

Что касается причины периодичности размножения и связанных с ней волнообразных изменений газообразования, то правдоподобным кажется следующее предположение.

Во всякой старой культуре, где размножения уже не происходит, подавляющее большинство клеток — это вполне созревшие и в одинаковой степени состарившиеся особи. Способность к пробуждению и — далее — к размножению у этих клеток более или менее одинакова. Поэтому при пересеве в свежую питательную среду подавляющее большинство клеток за одинаковое время успевает пройти тот период привыкания, приспособления к новой среде, пробуждения и подготовки к делению, который называется лагфазой. Большинство клеток одновременно заканчивает лагфазу и вступает в первый период массового размножения.

Большинство тех клеток, которые одновременно вступили в первый период массового размножения, одновременно успевают совершать также цикл размножения и вступить во второй период массового размножения. То же относится и к дочерним клеткам — первому поколению потомков, большинство которых отпочковалось во время первого периода массового

размножения. Таким образом, периодичность размножения зависит от того, что большинство клеток проходит цикл размножения за одинаковое время.

До сих пор речь шла о, так сказать, «средних» клетках. Несомненно, однако,— и это подтверждается в эксперименте,— что существуют и другие особи, которые проходят цикл размножения либо быстрее «средних» клеток, либо медленнее их. Удельный вес таких клеток в культуре с каждым периодом размножения все увеличивается. Соответственно этому выраженность периодов постепенно уменьшается, хотя, повидимому, полного сглаживания, нивелирования не происходит до истощения культуры и прекращения размножения в ней.

Об этом, в частности, свидетельствует анализ данных Зиберта и Зефферта, о которых речь шла выше.

Что касается волнообразных изменений газообразования, то они зависят, повидимому, от того, что делящаяся клетка вызывает лишь минимальное газообразование, как и предполагала проф. Плевако. Понижение газообразования происходит в самой ранней стадии деления, в «биохимической», если можно так выразиться, стадии. Эта стадия предшествует появлению видимых признаков размножения, т. е. почек. К тому времени, когда появляется почка, обмен клетки, повидимому, уже возвращается к своему обычному типу. Это следует из того, что во время появления большого числа почек газообразование культуры вновь усиливается, намного превосходя при этом газообразование до периода массового размножения, что совершенно понятно, так как в газообразовании принимает уже участие и только что родившееся поколение — результат последнего периода массового размножения.

Следует отметить, что волнообразность газообразования проявляется не с абсолютной точностью; однако в большинстве опытов ее можно без труда уловить, и носит она вышеописанный характер.

В пользу правильности высказанных предположений о преобладании в культуре «средних» особей свидетельствует также следующий факт.

В десятках опытов нами было обнаружено, что лагфаза заканчивается внезапно, критически. В то время как в старой культуре, а также в свежепересеянной культуре, в периоде лага можно обнаружить только единичные почки (лишь иногда 20—30 на 500 клеток), в момент окончания лагфазы в течение 10—20—30 минут число почек возрастает до 120—150—180 на 500 клеток — начинается первый период массового размножения.

Длительность лагфазы для данной расы и данных условий является, повидимому, величиной постоянной. Для XII расы при пересеве с двухсуточной жидкой культуры в сусло она равна приблизительно 1 часу, при пересеве с косого агара в сусло — 80 минутам.

Указанные закономерности развития и жизнедеятельности жидкой дрожжевой культуры — периодичность размножения и волнообразные изменения газообразования — должны учитываться при исследованиях, в которых употребляется жидкая культура дрожжей.

В частности, эти закономерности объясняют причину нестандартности эффекта в опытах Зиберта и Зефферта и дают основание надеяться, что с введением соответствующих поправок газометрический метод может быть с успехом использован для различных исследований.

Выводы

1. Размножение жидкой дрожжевой культуры происходит не равномерно, а периодами, циклами. «Период массового размножения», во время которого происходит одновременное деление значительной части ($^1/_4$—$^1/_3$) всех клеток, сменяется «периодом покоя», во время которого одновременно делится гораздо меньшая часть ($^1/_7$—$^1/_{10}$) клеток. Затем цикл повторяется.

2. Соответственно смене периодов размножения в культуре отмечаются волнообразные изменения газообразования. Кривая газообразования имеет ступенеобразный характер. Во время появления большого числа почек газообразование значительно усиливается.

Непосредственно перед появлением большого числа почек газообразование обычно несколько ослабевает.

3. Лагфаза заканчивается внезапно, критически, переходя в первый «период массового размножения».

4. Указанные закономерности развития и жизнедеятельности жидкой дрожжевой культуры — периодичность размножения и волнообразные изменения газообразования — должны учитываться при исследованиях, в которых употребляется жидкая культура дрожжей.

Киевская клиническая
больница ДВЗО

Получено 20.VII.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Siebert W. u. Seffert H. Ein neues Verfahren für den biologischen Nachweis der mitogenetischen Strahlung. Biochem. Z., 287, 104, 1936.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОСЛАБЛЕННЫХ И НЕТИПИЧНЫХ КУЛЬТУР АЗОТОБАКТЕРА, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТЫХ ПОЧВ

М. В. Федоров и *А. Эрнандес*

Большинство исследователей, изучавших широту распространения азотобактера в дерново-подзолистых почвах, пришли к заключению, что неблагоприятные условия почвенной среды приводят или к полному исчезновению данного микроорганизма, или же к сильному его ослаблению, при частичной потере азотфиксирующей активности (Мишустин и Бахарева [2], Мишустин и Семенович [3], Дианова и Ворошилова [1], Новогрудский и Наумова [4], Федоров [5, 6, 7, 8]). Такие культуры азотобактера были названы неактивными, хотя с ними и не проводились детальные физиологические исследования для выяснения природы их неактивности.

Поскольку в ходе наших исследований по изучению широты распространения азотобактера в дерново-подзолистых почвах, длительное время (более 40 лет) занятых монокультурой отдельных сельскохозяйственных растений и длительное время получавших определенные комбинации органических и минеральных удобрений, было выделено около 30 штаммов ослабленного и нетипичного азотобактера, целесообразно было подвергнуть их более детальному физиологическому исследованию. Эта работа нами была выполнена, и ее результаты приводятся ниже.

Изучение морфологических, культуральных и физиологических особенностей выделенных нами штаммов азотобактера показало, что их можно разделить на два основных вида. Один вид (более 20 штаммов) обладал всеми признаками типичного азотобактера, но слабо фиксировал азот атмосферы (5—7 мг на 1 г глюкозы). Мы признали его ослабленным Az. chroococcum. Второй вид (восемь штаммов) резко отличался от Az. chroococcum по ряду признаков. Клетки этого микроорганизма имеют палочковидную форму (1,5—7,7 $\mu \times$ 0,5—0,6 μ) с закругленными концами. Спор эта форма не образует и в молодом возрасте обладает подвижностью. Желатину не разжижает, молоко свертывает и слабо пептонизирует, растет на безазотных питательных средах, но очень слабо фиксирует азот атмосферы (0,24—1,0 мг на 1 г использованной глюкозы). На многих углеводах (глюкоза, мальтоза, сахароза, декстрин), а также на солях органических кислот (молочная, лимонная и др.) и спиртах (этиловый спирт, маннит) хорошо растет. Точная видовая принадлежность этого микроорганизма нами не была установлена, и в дальнейшем он будет обозначаться как «нетипичный азотобактер».

Азотфиксирующая активность выделенных штаммов того и другого микроорганизма была относительно небольшой, что легко установить из данных табл. 1.

Из данных табл. 1 легко установить, что азотфиксирующая активность типичного азотобактера довольно резко снижена (более чем на 50%), а нетипичного азотобактера столь незначительна, что находится на грани погрешности определения. Совершенно очевидно, что условия дерново-подзолистой почвы резко ослабляют азотфиксирующую активность азотобактера. В связи с этим возник естественный вопрос: в чем же заключаются причины, мешающие этому микроорганизму выполнять

Таблица 1

Азотфиксирующая активность чистых культур типичного и нетипичного азотобактера

(Средние данные из двух определений)

Агротехнический фон почвы, из которой выделена чистая культура	Az. chroococcum			Нетипичный азотобактер		
	Использовано сахара в г	Фиксировано азота атмосферы в мг		Использовано сахара в г	Фиксировано азота атмосферы в мг	
		всего	на 1 г использ. сахара		всего	на 1 г использ. сахара
По клеверу						
Навоз	1,72	9,4	5,4	0,45	0,44	0,97
NPK	1,75	11,0	6,3	0,45	0,20	0,44
PK	—	—	—	0,40	0,30	0,75
K	—	—	—	0,55	0,30	0,54
По овсу						
Навоз	2,00	8,8	4,4	0,70	0,60	0,85
NPK	1,00	2,9	2,9	0,30	0,26	0,76

свою азотфиксирующую функцию? Для выяснения этих причин нами были предприняты нижеописываемые опыты. Они ставились в эрленмейеровских колбах объемом на 150 мл с 50 мл безазотной питательной среды для азотобактера (модификация М. Федорова). После стерилизации колбы заражались соответствующими штаммами азотобактера и выдерживались в термостате с температурой 28—30° в течение 30 дней. По истечении этого срока в питательной среде производились определения неиспользованного сахара (по Бертрану) и общего азота (по Кьельдалю).

Таблица 2

Азотфиксирующая активность типичного и нетипичного азотобактера, выделенного из почвы клеверного поля с навозным удобрением на разных источниках углерода

Источники углерода	Az. chroococcum			Нетипичный азотобактер		
	Использовано в г	Фиксировано азота атмосферы в мг		Использовано в г	Фиксировано азота атмосферы в мг	
		всего	на 1 г орган. вещества		всего	на 1 г орган. вещества
Глюкоза	2,00 2,00	11,00 10,80	5,45	0,40 0,40	0,78 0,63	1,70
Сахароза	1,96 2,00	10,50 10,46	5,30	0,38 0,34	0,58 0,54	1,50
Маннит	1,98 1,95	10,10 8,90	4,78	0,53 0,49	0,34 0,22	0,50
Глицерин	1,80 1,60	8,50 8,90	5,10	0,49 0,53	0,30 0,26	0,54
Этиловый спирт	1,92 1,88	9,00 8,00	4,40	0,68 0,72	0,58 0,40	0,94

В первой серии опытов была исследована доступность для исследуемых культур азотобактера различных источников углерода. В опыт были включены: глюкоза, сахароза, маннит, глицерин и этиловый спирт. На всех источниках углерода хорошо развивались культуры как типичного, так и нетипичного азотобактера, но слабо фиксировали азот атмосферы, что легко установить на данных табл. 2.

Азотофиксирующая активность типичного и нетипичного азотобактера хотя несколько и меняется при использовании различных источников углерода, однако всюду она остается довольно низкой и не превышает 50% от активности стандартного штамма Az. chroococcum № 53. У нетипичного же азотобактера она исключительно низка и только на глюкозе и сахарозе достигает примерно 15% от фиксации стандартного штамма. При этом любопытно отметить, что на более восстановленных соединениях (маннит и этиловый спирт) она ниже, чем на углеводах (глюкоза и сахароза). Из этих данных следует, что окислительные ферменты у выделенных нами ослабленных культур азотобактера достаточно активны и могут вызывать довольно быстрое окисление ряда органических веществ, но продуктивность фиксации атмосферного азота у них довольно слабая, особенно у нетипичного азотобактера. Повидимому, ферментные системы, участвующие в азотфиксации, в первую очередь подвергаются инактивации в условиях дерново-подзолистых почв.

Достаточно высокая окислительная способность исследуемых культур выявляется не только из данных по количеству использованного органического вещества за 30 дней культуры, но и по быстроте восстановления окислительных индикаторов. Индикаторы вносились нами перед стерилизацией в ту же питательную среду, разлитую в пробирки (по 10 мл среды). После заражения среды теми же штаммами типичного и нетипичного азотобактера пробирки выдерживались в термостате с температурой 28—30°. Метиленовая синь полностью обесцветилась на пятый день в культурах типичного Az. chroococcum и на седьмой день в культурах нетипичного азотобактера. В те же примерно сроки произошло и восстановление индиго-кармина и метиловой зеленой. Чем активнее были культуры, тем скорее они и восстанавливали окислительные индикаторы. Так как метиловая зеленая полностью восстановилась, а нейтральная красная — частично, то следует считать, что окислительно-восстановительный потенциал в культурах как типичного, так и нетипичного азотобактера падает до — 258 мв. Эти данные показывают, что дегидразы у обоих видов

Таблица 3

Влияние взбалтывания питательной среды на фиксацию атмосферного азота типичным и нетипичным азотобактером (культуры выделены из почвы клеверного поля с навозным удобрением)

Штаммы азотобактера	Спокойные культуры			Взбалтываемые культуры		
	Использовано сахара в г	Фиксировано азота атмосферы в мг		Использовано сахара в г	Фиксировано азота атмосферы в мг	
		всего	на 1 г сахара		всего	на 1 г сахара
Нетипичный азотобактер	0,8 0,8	0,60 0,66	0,78	0,8 0,8	1,00 0,78	1,1
Ослабленный Az. chroococcum	2,0 2,0	9,40 9,40	4,70	2,0 2,0	10,00 10,60	5,0
Az. chroococcum (штамм № 53, стандарт)	2,0 2,0	21,60 21,60	10,64	2,0 2,0	12,80 14,00	6,7

азотобактера достаточно активны и могут мобилизовать водород из окисляемого ими органического вещества. Если бы фиксация азота атмосферы зависела только от мобилизации водорода, то она могла бы осуществляться с достаточной интенсивностью. Поскольку она крайне незначительна, следует полагать, что, помимо дегидраз, в процессе фиксации должны участвовать и другие ферменты, которые в клетках этих бактерий и находятся в инактивированном состоянии. Об этом же говорят и данные опытов со взбалтыванием питательной среды (табл. 3). При взбалтывании создаются более благоприятные условия для снабжения культуры как кислородом, так и молекулярным азотом.

Эти данные показывают, что взбалтывание культуры и более усиленное снабжение ее молекулярным азотом и кислородом мало сказывается на продуктивности фиксации азота атмосферы. Она остается почти на том же уровне, как и в спокойных культурах, что указывает на действительную инактивацию ферментов, обслуживающих данный процесс. Об этом же говорят и данные следующего опыта с добавлением в среду связанных соединений азота. В их присутствии окислительная активность

Таблица 4

Влияние связанных соединений азота на окислительную активность и азотфиксацию культур нетипичного азотобактера

Концентрация источника азота в среде в мг	Использовано сахара в г	Фиксировано азота атмосферы в мг		
		всего в отдельной культуре	всего в среднем	на 1 г использованного сахара
$NaNO_3$				
1,4	1,00 1,00	1,30 1,10	1,20	1,20
3,5	1,00 1,00	0,95 1,05	1,00	1,00
7,0	1,40 1,28	0,35 0,45	0,40	0,28
14,0	1,60 1,80	0,00 0,00	0,00	0,00
$NaNO_2$				
1,4	0,80 0,80	0,70 0,50	0,60	0,75
3,5	0,94 0,90	0,30 0,28	0,29	0,31
7,0	1,00 1,00	0,00	0,00	0,00
14,0	1,40 1,00	0,00	0,00	0,00
NH_4Cl				
1,4	1,02 0,98	0,70 0,66	0,68	0,61
3,5	1,22 1,30	0,70 0,70	0,70	0,52
7,0	1,68 1,50	0,70 0,94	0,82	0,54
14,0	1,80 1,80	0,00	0,00	0,00

даже нетипичных культур азотобактера резко возрастает вследствие нормализации всей физиологической деятельности микроорганизма, располагающего нужным количеством азота для синтеза своего клеточного вещества (табл. 4).

При малых дозах связанного азота в среде окислительная активность нетипичного азотобактера остается довольно низкой, а при более высоких дозах она сильно увеличивается, что указывает на лимитирующее значение азота в культурах на безазотной питательной среде. Азотфиксирующая же активность меняется в обратном направлении: при малых дозах связанного азота она остается на прежнем уровне, а при больших дозах падает до нуля.

Аналогичное влияние оказали нитраты и нитриты и на физиологическую активность ослабленного Az. chroococcum. При увеличении дозы связанного азота в среде азотфиксирующая активность этого вида микроорганизма заметно падает, а окислительная активность немного возрастает. То же самое было отмечено и при добавлении в среду аспарагина. Только в культурах нетипичного азотобактера аспарагин оказал иное влияние. При малых дозах этого соединения в среде не только усиливалась окислительная активность этого вида микроорганизма, но довольно

Таблица 5

Влияние дрожжевого автолизата на азотфиксирующую активность различных штаммов ослабленного Az. chroococcum, выделенного из почвы делянок, занятых монокультурой клевера и овса

Комбинация удобрений, вносившихся в почву	Исходн. азотфиксир. активность в мг на 1 г сахара	1 мл автолизата		2 мл автолизата		5 мл автолизата		10 мл автолизата		20 мл автолизата	
		использ. сахара в г	фикс. азота атмосф. в мг на 1 г сахара	использ. сахара в г	фикс. азота атмосф. в мг на 1 г сахара	использ. сахара в г	фикс. азота атмосф. в мг на 1 г сахара	использ. сахара в г	фикс. азота атмосф. в мг на 1 г сахара	использ. сахара в г	фикс. азота атмосф. в мг на 1 г сахара
Клевер											
Навоз + + NPK	3,2	2,0 2,0	4,75	2,0 2,0	5,60	2,0 2,0	7,05	2,0 2,0	4,50	2,0 2,0	5,00
PK	6,3	2,0 2,0	6,90	2,0 2,0	7,25	2,0 2,0	7,80	2,0 2,0	5,15	2,0 2,0	4,45
N	2,4	2,0 2,0	3,70	2,0 2,0	4,30	2,0 2,0	6,00	2,0 2,0	3,50	2,0 2,0	3,45
Овес											
Навоз + + NPK	5,3	2,0 2,0	6,05	2,0 2,0	6,85	2,0 2,0	7,70	2,0 2,0	5,15	2,0 2,0	5,00
NK	2,0	2,0 2,0	4,45	2,0 2,0	4,50	2,0 2,0	5,35	2,0 2,0	2,90	2,0 2,0	2,75
NP	2,3	2,0 2,0	3,80	2,0 2,0	5,00	2,0 2,0	5,45	2,0 2,0	3,00	2,0 2,0	3,05
N	2,6	2,0 2,0	5,15	2,0 2,0	6,35	2,0 2,0	6,65	2,0 2,0	4,20	2,0 2,0	4,00
Az. chroococcum (штамм № 53)	11,0	2,0 2,0	10,80	2,0 2,0	10,85	2,0 2,0	9,40	2,0 2,0	7,65	2,0 2,0	6,85

сильно возрастала и его азотфиксирующая активность (в среднем на 2 мг азота на 1 г использованного сахара). При высоких же дозах аспарагина (7 и 14 мг азота на 50 мл питательной среды) азотфиксирующая активность полностью подавлялась, хотя некоторая стимуляция интенсивности окисления и продолжала иметь место. Все эти данные также указывают на инактивацию ферментных систем, участвующих в азотфиксации. В связи с этим интересно было установить, не будут ли они активироваться добавлением в среду активаторов роста. С этой целью нами было испытано влияние на наши ослабленные культуры Az. chroococcum и нетипичного азотобактера дрожжевого автолизата, а также сенных отваров. На 100 мл питательной среды добавлялось по 1, 2, 5, 10 и 20 мл дрожжевого автолизата, содержавшего в каждом миллиметре 1,15 мг азота. При учете азотфиксирующей активности изучаемых культур азотобактера азот дрожжевого автолизата вычитался из общего азота, найденного в среде после опыта. Полученные в ходе этих опытов результаты приводятся в табл. 5.

Из этих данных можно установить, что в присутствии малых доз дрожжевого автолизата наблюдается резкое повышение азотфиксирующей активности типичного Az. chroococcum, выделенного из разных почв бессменного севооборота полевой опытной станции Тимирязевской сельскохозяйственной академии. Вместо 2,0—6,3 мг атмосферного азота на 1 г использованного сахара эти культуры начинают фиксировать 5,35—7,80 мг азота. Разница для отдельных культур получается почти в три раза. Столь значительная активация азотфиксирующей способности ослабленных культур Az. chroococcum под влиянием малых доз дрожжевого автолизата, несомненно, представляет большой научный интерес. Очевидно, в дрожжевом автолизате содержатся какие-то вещества, нормализующие работу ферментного аппарата, участвующего в фиксации азота атмосферы. Наиболее благоприятное действие оказали 2 и 5 мл автолизата. При увеличении же дозы до 10 и 20 мл эффект значительно снижается. В этом случае органические формы азота, содержащиеся в дрожжевом автолизате, начинают, видимо, конкурировать с атмосферным азотом и соответственно снижают его усвоение. На активную же культуру Az. chroococcum (№ 53) малые дозы дрожжевого автолизата не оказали никакого влияния, а высокие дозы вызывали угнетение процесса, очевидно, за счет снабжения организма связанным азотом.

Аналогичное влияние дрожжевой автолизат оказал и на культуры нетипичного азотобактера. При малых дозах дрожжевого автолизата продуктивность азотфиксации этого микроорганизма также возросла в три-четыре раза и в большинстве случаев достигла 4—4,5 мг азота на 1 г использованного сахара. Результаты опытов с этой культурой микроба приводятся в табл. 6.

В опытах с неактивным азотобактером эффект от внесения дрожжевого автолизата был еще больше. В отдельных случаях повышение азотфиксирующей активности достигало пяти раз и отвечало 4,5 мг на 1 г использованного сахара. Эта величина достаточно высокая и сближает эту культуру с ослабленным Az. chroococcum, указывая на возможную связь между ними. Однако эта культура и в присутствии дрожжевого автолизата остается довольно слабой, и ее окислительная способность ни в одном случае не поднимается до полного использования всего органического вещества, содержащегося в питательной среде, хотя при повышении доз дрожжевого автолизата она все время растет и в последнем варианте достигает 75% от окислительной активности стандартной культуры Az. chroococcum (штамм № 53).

Поскольку дрожжевой автолизат, доставляющий ослабленным культурам азотобактера связанные формы азота, вызывает более значительную активацию азотфиксирующей способности, чем аспарагин, следует думать, что содержащиеся в его составе дополнительные факторы роста

также имеют существенное значение в нормальной работе азотфиксирующего ферментного аппарата.

Таблица 6

Влияние дрожжевого автолизата на азотфиксирующую активность нетипичного азотобактера, выделенного из почвы, занятой монокультурой клевера и овса

Комбинации удобрений, вносимых в почву	Исходная азотфиксирующая активность в мг на 1 г сахара	1 мл автолизата		2 мл автолизата		5 мл автолизата		10 мл автолизата	
		использ. сахара в г	фикс. азота в мг на 1 г сахара	использ. сахара в г	фикс. азота в мг на 1 г сахара	использ. сахара в г	фикс. азота в мг на 1 г сахара	использ. сахара в г	фикс. азота в мг на 1 г сахара
Клевер									
Навоз	0,61	0,58 0,53	2,5	0,88 0,98	3,8	1,25 1,16	3,9	1,46 1,55	2,4
NPK	0,70	0,60 0,68	2,3	0,95 0,97	4,2	1,30 1,35	3,3	1,42 1,39	2,0
PK	1,34	0,61 0,52	3,7	0,80 0,82	4,5	1,23 1,34	3,0	1,60 1,60	2,6
P	0,76	0,70 0,71	2,5	0,87 0,94	3,2	1,42 1,54	3,7	1,54 1,47	2,3
K	0,87	0,62 0,69	3,3	0,84 0,87	3,7	0,87 0,92	5,3	1,25 1,16	3,0
Овес									
Навоз	0,60	0,73 0,68	4,0	0,98 1,03	4,0	1,36 1,25	3,0	1,42 1,40	2,2
NPK	0,86	0,60 0,69	4,6	0,76 0,83	3,3	1,04 0,96	3,5	1,41 1,40	2,8
K	0,50	0,70 0,31	3,8	0,90 0,90	4,7	1,20 1,20	4,0	1,34 1,39	3,0
Az. chroococcum № 53	11,0	1,93 1,97	11,1	1,98 1,94	10,9	1,98 1,94	9,5	1,98 1,98	8,2

Кроме дрожжевого автолизата, было испытано также влияние сенного экстракта. Оно оказалось совершенно аналогичным с дрожжевым автолизатом.

Использованный нами сенной экстракт содержал 0,41 мг связанного азота в каждом миллилитре.

Сенной экстракт почти вдвое повысил азотфиксирующую активность ослабленного Az. chroococcum и в 8—10 раз — нетипичного азотобактера. При добавлении 5 мл сенного экстракта азотфиксирующая активность нетипичного азотобактера почти сравнялась с активностью ослабленного азотобактера, что опять-таки указывает на возможную связь между ними. Значительное влияние оказал сенной экстракт и на окислительную активность нетипичного азотобактера. Она сильно увеличилась. Все эти данные с определенностью показывают, что добавление в питательную среду растворов, содержащих небольшие количества связанных соединений азота и дополнительные факторы роста, весьма сильно повышает физиологическую активность ослабленных культур как типичного, так и нетипичного азотобактера.

Для выяснения, какие же дополнительные факторы роста могут оказывать активирующее влияние, в дальнейшем были поставлены опыты с добавлением некоторых вытаминов в безазотную питательную среду в чистом виде. В опытах были испытаны витамины C, B_1 и B_2. Однако анализы субстратов на содержание общего азота показали, что резкого усиления азотфиксации под влиянием этих витаминов не наблюдается. Так как исследованием Федорова [8] было показано, что аскорбиновая кислота восстанавливает окислительную и азотфиксирующую активность многократно вымораживающихся клеток Az. agile, а в данном случае она оказалась не эффективной, то следует думать, что природа инактивации культур Az. chroococcum, продолжительное время находившихся в условиях дерново-подзолистых почв, иная, чем замораживавшихся культур.

Таблица 7

Влияние на азотфиксирующую активность ослабленного и нетипичного азотобактера микроэлементов (молибдена и бора)

Концентрация микроэлементов в мг на 100 мл среды	Ослабленный Az. chroococcum, выделен. из почвы, удобренной навозом				Нетипичный азотобактер			
	Использов. сахара в г	Фиксировано азота атмосферы в мг			Использов. сахара в г	Фиксировано азота атмосферы в мг		
		всего в отдельной культуре	всего в среднем	на 1 г использов. сахара		всего в отдельной культуре	всего в среднем	на 1 г использов. сахара
$(NH_4)_2MoO_4$								
0,5	2,00 2,00	9,10 9,30	9,20	4,60	0,30 0,30	0,40 0,30	0,35	1,10
1,0	2,00 2,00	10,50 11,10	10,80	5,40	0,37 0,33	0,30 0,26	0,28	0,80
2,0	2,00 2,00	10,30 10,50	10,40	5,20	0,40 0,31	0,67 0,74	0,70	1,20
H_3BO_3								
0,5	1,98 2,00	6,20 6,28	6,24	3,63	0,40 0,40	0,45 0,49	0,47	1,10
1,0	1,98 2,00	5,86 6,07	5,96	2,99	0,37 0,42	0,46 0,55	0,50	1,20
2,0	1,98 1,98	5,78 6,18	5,98	3,00	0,51 0,40	0,65 0,76	0,70	1,55
Смесь микроэлементов	2,00 2,00	9,50 8,90	9,20	4,60	0,45 0,56	0,51 0,60	0,56	1,10
$ZnSO_4$								
0,02	—	—	—	—	0,42 0,29	0,30 0,30	0,30	0,80
0,04	—	—	—	—	0,40 0,20	0,20 0,21	0,20	0,60
0,08	—	—	—	—	0,37 0,33	0,29 0,33	0,31	0,80
Без микроэлементов	1,98 1,94	7,50 5,60	5,65	2,90	0,30 0,30	0,18	0,09	0,30

Кроме витаминов, были испытаны и некоторые микроэлементы, в частности бор, молибден и цинк. Бор и молибден вносились в количестве 0,5, 1,0 и 2,0 мг на 100 мл среды, а цинк — в количестве 0,02, 0,04 и 0,08 мг.

Полученные в ходе этих опытов результаты приводятся в табл. 7.

Данные этой таблицы показывают, что и микроэлементы имеют существенное значение для процесса азотфиксации, вызываемого ослабленными и нетипичными культурами азотобактера. При отсутствии микроэлементов азотфиксирующая активность их сильно падает. Если в среде, обеспеченной микроэлементами, культуры ослабленного азотобактера усваивают на 1 г использованного сахара 4,6—6,0 мг атмосферного азота, то в среде, лишенной этих элементов, они усваивают только 2,9 мг, т. е. в два раза меньше. Наиболее важное значение из микроэлементов имеет молибден. В его присутствии азотфиксирующая активность достигает своего максимума. Значение бора менее существенно, хотя и он несколько повышает азотофиксирующую активность.

Аналогичный результат получается и с нетипичным азотобактером. Без микроэлементов он фиксирует только 0,3 мг атмосферного азота, а с микроэлементами — 1,20—1,55 мг. Эффект от наличия этих элементов в среде следует считать весьма значительным, но, в отличие от ослабленного азотобактера, для этого микроба весьма существенным оказался и бор. Любопытно отметить, что бор и молибден специфически стимулируют азотфиксирующую активность ослабленных культур азотобактера, почти не усиливая их окислительной способности. Оба микроба ведут себя в этом отношении однотипно, поэтому есть основания считать, что и нетипичный азотобактер в какой-то степени связан с типичным и реагирует однотипно на добавление в среду микроэлементов и дрожжевого автолизата. Однако истинная природа их взаимосвязи пока остается еще недостаточно ясной.

Выводы

1. Продолжительное пребывание Az. chroococcum в условиях дерново-подзолистой почвы ослабляет его физиологическую активность. Особенно резкому угнетению подвергается азотфиксирующая способность этого микроорганизма.

2. Изучение физиологической активности ослабленного Az. chroococcum, а также нетипичного азотобактера показало, что ферменты, обслуживающие процессы дыхания, достаточно активны, а ферменты, участвующие в азотфиксации, находятся в инактивированном состоянии.

3. Аспарагин, дрожжевой автолизат и сенной экстракт сильно активируют азотфиксирующую активность ослабленного и нетипичного азотобактера. Так как дрожжевой автолизат и сенной экстракт дают гораздо больший эффект, чем аспарагин, то следует думать, что, кроме связанных форм азота, большое значение для активации этих культур имеют и дополнительные факторы роста, способствующие нормализации физиологической деятельности этих микроорганизмов.

4. Весьма значительная активация азотфиксирующей активности ослабленного и нетипичного азотобактера наблюдается и при внесении в среду микроэлементов — молибдена и бора. Весьма возможно, что в условиях подзолистой почвы азотобактер ощущает недостаток в этих микроэлементах. Вследствие этого его клетки постепенно обедняются молибденом и бором и их азотфиксирующая активность падает. Внесение в эти почвы молибденовых и борных удобрений могло бы благоприятно отразиться на распространении и активности азотобактера.

5. Так как ослабленный Az. chroococcum и нетипичный азотобактер однотипно реагируют на наличие в среде дрожжевого автолизата и микроэлементов, значительно повышая свою азотфиксирующую активность

то не исключена возможность, что между ними имеется родственная связь. Может быть нетипичный азотобактер представляет собою дальнейший этап деградации Az. chroococcum под влиянием неблагоприятных условий среды, создающейся в дерново-подзолистых почвах вследствие их кислотности и малого содержания доступных микроорганизму углеродистых соединений. Выяснение физиологической связи между этими микроорганизмами представляло бы значительный научный интерес.

6. На основе вышеизложенных исследований необходимо признать, что ферментный аппарат, обслуживающий процесс азотфиксации, крайне чувствителен к условиям среды и легче других ферментных систем подвергается инактивации. Это подтверждает тесную связь данного ферментного аппарата с протоплазмой клетки.

Сельскохозяйственная академия
им. К. А. Тимирязева

Получено 17.X.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дианова Е. В. и Ворошилова А. А. Отсутствие или неактивность азотобактера в почве? Микробиология, II, 126, 1933.
2. Мишустин Е. Н. и Бахарева З. И. Почвенная кислотность как фактор, определяющий появление в почве неактивного азотобактера. Микробиология, VIII, 1063, 1939.
3. Мишустин Е. Н. и Семенович М. А. Почвенная кислотность как фактор, определяющий появление в почве неактивного азотобактера. Микробиология, VIII, 19, 1939.
4. Новогрудский Д. М. и Наумова А. Н. К вопросу о причинах «неактивности» азотобактера. Микробиология, I, 181, 1932.
5. Федоров М. В. Влияние азотобактера на азотный баланс почвы и урожай сельскохозяйственных растений при удобрении почвы соломой. Микробиология, IX, 541, 1940.
6. Федоров М. В. Интенсивность фиксации азота атмосферы азотобактером на разных источниках углерода. Микробиология, XIV, 94, 1945.
7. Федоров М. В. Влияние на фиксацию азота атмосферы азотобактером активной реакции среды. Советская агрономия, № 6, 17, 1947.
8. Федоров М. В. Биологическая фиксация азота атмосферы. Монография. Сельхозгиз, М., 1952.

ЗНАЧЕНИЕ АССИМИЛЯЦИОННОГО АППАРАТА И КОРНЕВОЙ СИСТЕМЫ ДЛЯ ВОСПРИИМЧИВОСТИ БОБОВОГО РАСТЕНИЯ К КЛУБЕНЬКОВЫМ БАКТЕРИЯМ

Б. В. Квасников и *С. Т. Долгих*

При проведении селекционной работы с бобовыми растениями по повышению интенсивности образования клубеньков необходимо было выяснить возможность направленного изменения восприимчивости овощных бобовых культур при помощи вегетативного воздействия прививочных компонентов, а также значение ассимиляционного аппарата и корневой системы для восприимчивости бобового растения к клубеньковым бактериям.

В своих опытах с горохами Разумовская [2] наблюдала сдвиги в характере образования клубеньков у подвоя в сторону привоя.

Зависимость количества клубеньков от степени развития привоя отмечена и Рубиным [3] в опытах по взаимодействию компонентов в межсемейственных прививках с участием бобовых культур. При этом у всех прививок, в которых бобовое растение было подвоем, а привоем небобовое растение, имело место образование клубеньков.

В опытах Гофмана (Hofmann [6]) при прививках обыкновенной фасоли на фасоль Лима у потомства привоя изменялась бактериальная симбиотическая специфичность.

Федоров [4] путем вегетативного сближения люпина с фасолью, горохом и соей изменял специфичность клубеньковых бактерий. В этих же целях применяла вегетативную гибридизацию Петерсон [1].

При проведении наших опытов были сделаны прививки четырех типов:

1. Межродовые: соя (Glycine), фасоль (Phaseolus); в этом случае каждый прививочный компонент имел восприимчивость к различным специализированным расам клубеньковых бактерий.

2. Межвидовые: фасоль обыкновенная (Phaseolus vulgaris) и тепари (Phaseolus acutifolius), фасоль обыкновенная и маш (Phaseolus aureus). Прививаемые виды также обладали восприимчивостью только к определенным расам клубеньковых бактерий.

3. Межсортовые в пределах вида обыкновенной фасоли (Ph. vulgaris). Сорта обладали восприимчивостью к клубеньковым бактериям обычного фасолевого типа средней нечерноземной полосы, представленным местными расами и заводским нитрагином, но наряду с этим сорта различались между собой по интенсивности образования клубеньков.

4. Межсортовые прививки у сортов гороха, различающихся между собой по восприимчивости к клубеньковым бактериям.

Межродовые прививки соя/фасоль

В качестве исходного материала были использованы соя сорта Куйбышевская 077 и фасоль сорта Северная звезда.

Семена сои и фасоли перед посевом инокулировались культурой фасолевых клубеньковых бактерий № 673, полученной из Института сельскохозяйственной микробиологии (Москва). Прививка проводилась методом аблактировки (сближением стеблей корнесобственных растений) через 3—5 дней после всходов. Сращивание производилось в месте образования подсемедольного колена. В местах сближения у стеблей удалял-

ся эпидермис, после чего сближаемые стебли плотно связывались мягкой хлопчатобумажной ниткой.

Перед прививкой и после прививки растения выращивались в песчаной культуре. В качестве удобрений использовалась третья питательная смесь Гельригеля.

Привитые растения высаживались в сосуды, разделенные стеклянной перегородкой на две части так, чтобы корневая система обоих прививочных компонентов развивалась изолированно друг от друга. В качестве контроля служили фасоль и соя на своих корнях.

Срастание фасоли с соей происходило медленно. Специальные анатомические исследования, проведенные по нашему предложению практиканткой МГУ Языковой, показали, что срастание в прививках семейства бобовых идет значительно медленнее, чем в семействе пасленовых. Полное срастание требует от двух до четырех месяцев. В четырехмесячных прививках наблюдалось уже окончательное соединение сосудистых систем привоя и подвоя.

В период массового цветения прививок был произведен учет путем отмывки корневой системы у опытных растений.

Контрольные растения сои клубеньков не образовали. Контрольные растения фасоли, а также привитые аблактировкой растения фасоли образовали на своих корнях многочисленные клубеньки.

На корнях сои при прививке на нее фасоли был найден один клубенек. Из клубенька была выделена чистая культура бактерий. При последующей инокуляции данной культурой фасоли и сои клубеньки образовались только на корнях фасоли.

Таким образом, воздействие привоя фасоли на корневую систему подвоя в сторону восприимчивости к фасолевым клубеньковым бактериям хотя и проявлялось, но в весьма незначительной степени; при этом клубеньковые бактерии фасоли при таком однократном пассаже на сою не изменили свои специфические особенности и остались бактериями фасолевого типа.

Несмотря на воздействие фасолевого ассимиляционного аппарата, корневая система сои весьма устойчиво сохранила свою невосприимчивость к специфическим фасолевым клубеньковым бактериям.

Межвидовые прививки фасоль/маш и фасоль/тепари

а) Прививка фасоль/маш

В качестве компонентов была взята фасоль Сахарная грибовская, хорошо образующая клубеньки, и маш № 2156, полученный из ВИРа.

Семена перед посевом инокулировались фасолевыми клубеньковыми бактериями № 673. Культура велась в вегетационных сосудах с обычной огородной почвой.

Прививка производилась в фазе первого настоящего листа в декапитированное над первым листом растение так, чтобы при дальнейшем росте развивался только ассимиляционный аппарат привоя.

В 1952 г. прививки $\frac{\text{привой маш}}{\text{подвой маш}}$ и $\frac{\text{привой Сахарная грибовская}}{\text{подвой маш}}$ клубеньков не образовали. В контрольной прививке $\frac{\text{привой Сахарная грибовская}}{\text{подвой Сахарная грибовская}}$ в среднем образовалось по 30 клубеньков на одно растение. При прививке $\frac{\text{привой маш}}{\text{подвой Сахарная грибовская}}$ в среднем на одно растение образовалось по 72 клубенька (табл. 1).

Таким образом, несмотря на физиологическое несоответствие маша с фасолевыми клубеньковыми бактериями, ассимиляционный аппарат маша стимулировал образование клубеньков на корнях фасоли, взятой в качестве подвоя.

Аналогичные результаты получены и в 1953 г. на прививках $\frac{\text{привой фасоль}}{\text{подвой маш}}$ и обратно.

При прививке $\frac{\text{привой маш}}{\text{подвой маш}}$ клубеньков на корнях подвоя не обнаружено; при прививке $\frac{\text{привой Сахарная грибовская}}{\text{подвой Сахарная грибовская}}$ в среднем на одно растение образовалось 78,3 клубенька, а при прививке $\frac{\text{привой маш}}{\text{подвой Сахарная грибовская}}$ по 102 клубенька.

б) Прививка фасоль/тепари

Фасоль тепари не образовала клубеньков, несмотря на прививку на нее сорта фасоли Северная звезда с активным образованием клубеньков. При прививке тепари на Северную звезду количество клубеньков на корнях Северной звезды, в сравнении с контролем, значительно увеличилось. Тепари при прививке на фасоль развил большой ассимиляционный аппарат и вегетировал до поздней осени.

Таблица 1

Влияние привоя на образование клубеньков при межвидовых прививках: фасоль/маш; фасоль/тепари

Варианты прививок	Дата прививки	Дата учета	Число учтенных растений	Среднее количество клубеньков на одно растение
Привой маш / подвой маш	31.V.1952	14.VIII	2	—
Привой Сахарная грибовская / подвой маш			4	—
Привой Сахарная грибовская / подвой Сахарная грибовская			4	30,0
Привой маш / подвой Сахарная грибовская			5	72,0
Привой маш / подвой маш	20.IV.1953	26.VIII	6	—
Привой Сахарная грибовская / подвой Сахарная грибовская			6	78,3
Привой маш / подвой Сахарная грибовская			5	102,0
Привой тепари / подвой тепари	22.V.1952	5.IX	4	—
Привой Северная звезда / подвой тепари			5	—
Привой Северная звезда / подвой Северная звезда			5	2,2
Привой тепари / подвой Северная звезда			4	17,5

Примечание — означает отсутствие клубеньков.

Таким образом, и в данных опытах выявилось, что специфичность восприимчивости к тем или иным расам клубеньковых бактерий в основ-

Таблица 2

Влияние длины дня на развитие клубеньков у гороха (1951 г.)

Сорт	Длина дня в часах	Развитие клубеньков в баллах *					Вес сырой массы на одно растение в г
		0	1	2	3	4	
		Процент растений каждого класса					
Учет 19.VI							
Пионер (ранний)	17**	—	—	16,6	41,7	41,7	8,1
	10	—	46,1	38,5	15,4	—	5,4
Белладонна (среднепоздний) . .	17	—	—	25,0	33,3	41,9	6,6
	10	—	35,7	35,7	28,6	—	3,6
Победитель (среднепоздний) .	17	—	—	30,8	53,8	15,4	5,7
	10	—	50,0	12,5	37,5	—	3,6
Учет 10.VII							
Пионер (ранний)	17	—	12,5	62,5	18,7	6,3	42,2
	10	—	75,0	25,0	—	—	24,1
Белладонна (среднепоздний) .	17	—	35,7	35,7	21,5	7,1	33,2
	10	—	62,5	37,5	—	—	22,2
Победитель (среднепоздний) .	17	9,1	18,2	27,3	18,2	27,2	44,1
	10	—	100,0	—	—	—	30,5

* Баллом 4 оценивалось максимальное образование клубеньков.
** 17 часов — естественная длина дня.

Таблица 3

Содержание сахаров у различных сортов гороха (в процентах на абсолютно-сухой вес) (1953 г.)

Сорт	Дата анализа	Интенсивность образования клубеньков	Корни				Стебли + листья			
			глюкоза		сахароза	общий сахар	глюкоза		сахароза	общий сахар
			до инверсии	после инверсии			до инверсии	после инверсии		
Скороспелый мозговой . .	13.VII	Сильная	0,468	2,480	1,920	2,388	5,04	5,23	—	5,23
Ранний мозговой . .	13.VII	Слабая	0,258	2,620	2,260	2,518	3,92	3,92	—	3,92
Сахарный Бровцина	15.VII	Сильная	1,130	1,130	—	1,130	16,88	20,28	3,200	20,08
Неистощимый . . .	15.VII	Слабая	0,447	1,040	0,556	1,013	14,63	16,43	1,740	16,37
Победитель	24.VII	Сильная	0,660	1,410	0,709	1,369	15,86	15,86	—	15,86
Афганистан 1884 . . .	24.VII	Слабая	0,218	1,550	1,270	1,488	12,18	12,36	0,177	12,36

ном определяется физиологическими особенностями корневой системы вида. Вместе с тем имеет место и положительное действие ассимиляционного аппарата привоев маша и тепари, что можно объяснить более продолжительным вегетированием привитого на корни фасоли ассимиляционного аппарата маша или тепари. В данном случае активизация образования клубеньков явилась следствием более обильного питания клубеньковых бактерий углеводами.

Чайлахян и Меграбян [5], изучая влияние длины дня на образование клубеньков на корнях бобовых растений, констатировали, что внутренним фактором, создающим благоприятные условия для интенсивности развития клубеньковых бактерий на корнях бобовых растений, является богатое содержание углеводов в растении.

Аналогичные данные получены и в наших опытах по гороху (табл. 2); развитие вегетативной массы и интенсивность образования клубеньков резко ослаблялись на укороченном до 10 часов дне как у ранних, так и у поздних сортов.

Последующее изучение углеводов в вегетативной части и корнях сортов растений, различающихся по интенсивности образования клубеньков, также показало, что у сортов бобовых культур (фасоль, горох) с повышенной интенсивностью образования клубеньков содержалось не только большее количество углеводов вообще, но, и что особенно важно, в корневой системе этих сортов содержалось более высокое количество моносахаров в сравнении с сортами с более низким образованием клубеньков (табл. 3).

Межсортовые прививки фасоли

В качестве прививочных компонентов были использованы сорт фасоли Сакса без волокна с относительно слабым образованием клубеньков и сорт Широкостручная с более интенсивным образованием клубеньков. Подвоем служили растения 3—5-дневного возраста, привоем — растения 8—10-дневного возраста.

Таблица 4

Прививка сортов фасоли, отличающихся по интенсивности образования клубеньков. (Дата прививки 20.VI 1953 г., дата учета — 26.VIII 1953 г.)

Варианты прививок	Число учтенных растений	Среднее количество клубеньков на одно растение
Привой Сакса без волокна / подвой Сакса без волокна	12	46,8
Привой Широкостручная / подвой Сакса без волокна	12	75,1
Привой Широкостручная / подвой Широкостручная	8	53,3
Привой Сакса без волокна / подвой Широкостручная	11	66,3

Учет приживаемости, проведенный в 1953 г. через две недели после прививки, показал хорошую приживаемость большинства сортов фасоли.

Прививки обыкновенной фасоли (Сахарная грибовская) с другими видами фасоли (маш) имели несколько более низкий процент приживаемости.

Как при прямой, так и при обратной межсортовых прививках фасоли интенсивность образования клубеньков в сравнении с контролями повысилась, что можно объяснить более интенсивным ростом прививочных гибридов (табл. 4).

Прививка не оказала влияния на содержание азота в клубеньках. Общего азота в клубеньках контрольной прививки сорта Сакса без волокна содержалось 3,62%, а в клубеньках привитых растений в комбинации привой Широкостручная/подвой Сакса без волокна содержалось 3,45%

При последующих посевах семенных репродукций однократного и двухкратного воздействия межсортовых прививочных компонентов различия вегетативных гибридов от исходных сортов по интенсивности клубенькообразования находились в пределах возможной ошибки. Это указывает на большую консервативность физиологических особенностей корневой системы по восприимчивости к клубеньковым бактериям и необходимость использовать при направленном вегетативном воздействии не чистые сорта, а половые гибриды с менее устойчивой наследственной природой.

Межсортовые прививки гороха

При прививке были использованы, с одной стороны, сорта с очень слабым образованием клубеньков, как Мушунг 1925 и Ранний мозговой, а также образец ВИРа Афганистан 1884, обычно не образующий в условиях центральной нечерноземной зоны клубеньков.

В качестве компонентов с более высокой интенсивностью клубенькообразования использованы сорта Победитель и Майский 013.

Приживаемость прививок гороха в большинстве случаев была несколько ниже, чем у прививок культуры фасоли (табл. 5). Лучшее срастание компонентов имело место у сортов Победитель и Ранний мозговой как в прямом, так и в обратном варианте прививки.

Таблица 5

Прививка сортов гороха, отличающихся по интенсивности образования клубеньков

Варианты прививки	Приживаемость в %
Привой Победитель / подвой Победитель	62,5
Привой Ранний мозговой / подвой Победитель	93,7
Привой Ранний мозговой / подвой Ранний мозговой	83,3
Привой Победитель / подвой Ранний мозговой	91,1
Привой Майский 013 / подвой Майский 013	52,0
Привой Афганистан 1884 / подвой Майский 013	45,7

Учет интенсивности клубенькообразования показал, что под влиянием привоя, обладающего повышенной способностью к образованию клубеньков, сорт Мушунг 1925 несколько повысил число клубеньков (2,0 против 0,5 у исходного).

Сорт Ранний мозговой, несмотря на воздействие ассимиляционного аппарата сорта Победитель, сохранил низкий уровень образования клубеньков. При обратных прививках, когда в качестве привоя использовались сорта с пониженным образованием клубеньков, подвои сохраняли свойственную им интенсивность образования клубеньков наряду с контролем. Таким образом, и у гороха основным фактором, определяющим характер восприимчивости растений к клубеньковым бактериям, являются физиологические особенности корневой системы бобового растения (табл. 6).

Наряду с этим увеличение ассимиляционного аппарата и более продолжительное его вегетирование благоприятно сказываются на углеводном питании клубеньковых бактерий, что стимулирует их развитие даже в тех случаях, когда привой не обладает восприимчивостью к расам бактерий, свойственным подвою.

Аналогичное положение, где взаимоотношение между растением и корневым паразитом определяется физиологическими особенностями корня, имеет место и в других случаях сожительства растений с корневыми паразитами. Так, по нашим данным, грибок Plasmodiophora brassiceae (кила) интенсивно развивается на корнях неустойчивых сортов кочанной капусты Номер первый, Слава и др., что сильно угнетает пораженные растения и часто приводит к их гибели. При прививке этих сортов на листовую капусту «Язык жаворонка», устойчивую к киле, неустой-

Таблица 6

Влияние межсортовых прививок гороха на образование клубеньков

Варианты прививок	Дата прививки	Дата учета	Число учтенных растений	Среднее количество клубеньков на растение
Привой Мушунг 1925 / подвой Мушунг 1925	13.VI. 1952	14.VIII	8	0,5
Привой Победитель / подвой Мушунг 1925	13.VI. 1952	14.VIII	10	2,0
Привой Победитель / подвой Победитель	29.IV. 1953	2.VII	31	16,1
Привой Ранний мозговой / подвой Победитель	29.IV. 1953	2.VII	8	18,0
Привой Ранний мозговой / подвой Ранний мозговой	29.IV. 1953	2.VII	14	1,8
Привой Победитель / подвой Ранний мозговой	29.IV. 1953	2.VII	25	1,2
Привой Майский 013 / подвой Майский 013	29.IV. 1953	2.VII	15	12,1
Привой Афганистан 1884 / подвой Майский 013	29.IV. 1953	2.VII	4	10,1
Афганистан 1884 (контроль)			20	—

чивые сорта развиваются нормально и дают хороший урожай. При обратной прививке устойчивого сорта на неустойчивые сорта корневая система подвоя поражается килой так же интенсивно, как обычно у неустойчивого сорта, что приводит к гибели и привитого устойчивого сорта.

Ввиду того, что восприимчивость бобовых растений к клубеньковым бактериям обусловлена физиологическими особенностями корневой системы, возникает вопрос о необходимости непосредственного воздействия корней подвоя на корни привоя, с последующим получением из корней привоя адвентивных почек путем регенерации.

Выводы

1. Восприимчивость бобовых растений к клубеньковым бактериям обусловливается физиологическими особенностями корневой системы, а не ассимиляционного аппарата.

2. Интенсивность развития клубеньковых бактерий, поселившихся на корнях бобовых растений, зависит от степени развития ассимиляционного аппарата привоя, длительности его вегетации, длины дня, определяющих содержание углеводов в растении; чем больше углеводов накапливает ассимиляционный аппарат бобового растения в вегетативной массе и корнях, тем более благоприятные условия создаются для развития клубеньковых бактерий.

В корневой системе сортов бобовых культур с повышенной интенсивностью образования клубеньков содержится более высокое количество моносахаров.

Научно-исследовательский
институт овощного хозяйства
Москва

Получено 10.X.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Петерсон Н. В. Изменчивость клубеньковых бактерий. Автореферат, 1953.
2. Разумовская З. Г. Образование клубеньков при прививках у гороха. Уч. зап. ЛГУ, серия биол. наук, вып. 15, № 75, 1945.
3. Рубин Б. А. и др. О взаимодействии компонентов в межсемейственных прививках. ДАН СССР, LXXXVIII, № 6, 1953.
4. Федоров С. И. Прививка и природа клубеньковых бактерий. Яровизация, № 1, 1940.
5. Чайлахян М. Х. и Меграбян А. А. Влияние длины дня на образование клубеньков на корнях бобовых растений. ДАН СССР, XLVII, № 6, 1945.
6. Hofmann F. W. Reciprocal effects from grafting. J. Agric. Research, 34, No. 7, 1927.

ИЗУЧЕНИЕ МИКРОФЛОРЫ РИЗОСФЕРЫ СЕЯНЦЕВ СОСНЫ

А. Я. Трибунская

Для получения более полных представлений об особенностях питания древесных растений необходимо наряду с изучением микотрофии, т. е. питания за счет деятельности грибов, заселяющих корни, изучать также бактериотрофию, т. е. питание растений за счет бактериального населения поверхности корней и клеток корней. Известно, что прикорневая зона почвы и поверхность корней (ризосфера) заселены различными микроорганизмами, играющими важную роль в питании растений [15]. Установлено, что для древесных растений микотрофия играет большую роль. Что же касается участия в их питании других групп микробов, то сведения по этому вопросу довольно ограничены. В литературе имеется мало данных о наличии на корнях древесных растений бактерий, деятельность которых связана с азотным балансом почвы, например таких, как азотобактер, аммонификаторы и нитрификаторы [10, 17]. В частности, в работе Мантейфель и сотр. [10] показано увеличение количества этих бактерий в ризосфере дуба. Имеются данные о приживаемости или неприживаемости азотобактера на поверхности корней сеянцев некоторых пород древесных растений при посеве бактеризованных семян [16], а также сведения о положительном и отрицательном влиянии ряда древесных растений на сохранение и размножение азотобактера в почве [5, 6, 7]. Практическое значение применения бактериальных удобрений для древесных растений показано преимущественно в работах с плодовыми растениями [3, 13, 14, 16].

Меньше данных имеется о положительном влиянии бактерий на рост сеянцев неплодовых древесных растений [2, 8, 11, 18, 19].

Грибы, образующие микоризу сосны, изучены довольно подробно [4, 9, 12], бактериальное же население ризосферы сосны изучено слабо. Это послужило нам основанием для проведения исследования по выяснению влияния на микофлору ризосферы сосны наличия или отсутствия на ее корнях микоризных грибов. В данной работе излагаются краткие результаты этих опытов. Обследовались корни пятимесячных сеянцев сосны, выращенных на серой лесной, сильно подзолистой почве опытного участка Уральского лесотехнического института (Свердловск). Рост сеянцев сосны на этих бедных перегноем, сильно глинистых и заплывающих серых лесных почвах происходит медленно, и годовалые сеянцы получаются низкорослыми, с плохо развитыми корнями. Внесение компостов и фосфорных гранулированных удобрений позволяет получить на этих почвах более мощные сеянцы, особенно богатые микоризой. Однако и при этом часть сеянцев (до 10—20% и более, в зависимости от влажности почвы) бедна микоризой. Сопоставление бактериальной микрофлоры корней этих сеянцев с нормальным развитием микоризы представляло определенный интерес.

Для исследования некоторых систематических групп микробов в ризосфере сеянцев сосны нами использовалась обычная микробиологическая методика, заключавшаяся в посеве ризосферной почвы или смывов с поверхности корней сеянцев на дифференциальные элективные среды с последующим подсчетом и изучением вырастающих микроорганизмов. Корни десяти экземпляров средних сеянцев, по возможности одинаковые

по размеру, но различающиеся по количеству микоризы, отряхивались от почвы, и остатки почвы, более прочно связанные с поверхностью корней, и обитающие в ней микробы смывались последовательно тремя порциями стерильной воды. После этого корни растирались в стерильных условиях, и суспензия с растертых корней соединялась со смывом. Из смеси смыва и суспензий делался ряд разбавлений стерильной водой, и производился посев на следующие среды:

1) почвенный агар;
2) мясо-пептонный агар;
3) корневой агар (уплотненный экстракт из корней сеянцев сосны);
4) силикагель Омелянского (с декстрином и молибденовокислым аммонием);
5) гумусовый силикагель.

Для выявления организмов, особенно тесно связанных с поверхностью корня, производилась раскладка на питательные среды указанного состава корней сеянцев. Последние сначала тщательно отмывались от почвы сильной струей воды, затем стерильной дестиллированной водой, после чего они высушивались стерильной фильтровальной бумагой. Опыты по обрастанию корней сеянцев сосны, разложенных на поверхности плотных питательных сред, показали следующее. На почвенном агаре отмытые корни быстро обрастают мощным грибным чехлом; при этом у микоризных корней обрастание заметно больше, чем у немикоризных. Грибы, вырастающие вокруг корня, в преобладающем количестве относятся к виду Penicillium glaucum. Представители других видов грибов составляют не более 3—5% и представлены Penicillium luteum, Cladosporium herbarum, Fusarium oxysporum, Rhizopus nigricans.

Оказалось, что Penicillium glaucum энергично подавлял развитие других указанных видов грибов. Таким образом, поверхность корней сеянцев сосны частично занята плесневыми грибами, гифы которых обнаруживаются и при микроскопическом изучении отмытых и окрашенных корней. Известно, что плесневые грибы рода Penicillium не являются микоризообразователями [4, 9, 12]. Использование азотистых веществ гиф этих грибов сеянцами древесных растений возможно лишь путем обмена веществами между гифами и клетками корней, а также после разрушения гиф плесеней миколитическими бактериями и аммонификаторами.

На мясо-пептонном агаре наблюдается обрастание корней сплошной лентой гнилостных бактерий, не отличающееся существенно у микоризных и немикоризных корней. Обрастание корней азотобактером на среде, избирательной для этих бактерий, не наблюдается. Следовательно, на серой лесной почве в ризосфере сеянцев сосны не создаются условия, благоприятные для размножения этого микроба. В то же время, как показали наши опыты [18], азотобактер, внесенный в почву, удерживается в ризосфере сеянцев сосны длительное время. Если оставить корни на безазотистой среде Омелянского на длительное время (2—3 недели) при комнатной температуре, то на поверхности отмирающих корней появляются небольшие колонии актиномицетов в виде коричневато-белых творожистых скоплений. На кончиках сосущих корневых окончаний наблюдается появление пучков коричневых разветвлений гиф в виде кустиков, являющихся, по нашему мнению, гифами микоризных грибов, выходящими на поверхность отмирающих корней. Плодоношение у них отсутствует. Наряду с этими типами грибков на поверхности темнеющих и отмирающих корней сосны появляется большое количество своеобразных коричневатых низкорослых грибков с характерным мицелием, образующим на корне и на поверхности студня вблизи от корней правильную геометрическую сетку с черными шаровидными вздутиями в местах пересечения гиф. Установить систематическое положение этого гриба не удалось. Особенно много грибков трех упомянутых типов обнаруживается на микоризных корнях.

Характерно, что грибы типа пенициллиум, мукор и фузариум на переживающих и отмирающих корнях в условиях безазотистой среды отсутствуют.

В опытах с посевами разбавленных смывов-суспензий с корней сеянцев сосны получены данные, указывающие на резкое увеличение количества бактерий и грибов в ризосфере микоризных корней (см. таблицу). При этом величины для плесневых грибов и актиномицетов рассчитаны по числу колоний, вырастающих на плотной среде, и характеризуют число спор и обрывков гиф грибов, находившихся в смыве-суспензии.

Количество микроорганизмов ризосферы пятимесячного сеянца сосны в миллионах на один сеянец

Микроорганизмы	Немикоризные растения	Микоризные растения
Грибы		
Плесени	0,9	8,3
Актиномицеты	2,1	4,1
Бактерии		
Гнилостные бактерии	16—45	80—130
Бактерии-сапрофиты (на корневом агаре)	122	1720
Бактерии-дегуммификаторы	0,3	0,7
Азотобактер	Нет	Нет

Приведенные данные показывают, что характерной группой микробов ризосферы сеянцев сосны являются плесневые грибы. При этом у микоризных растений их количество сильно увеличено по сравнению с немикоризными сеянцами. Среди колоний плесеней 90—95% представлено Penicillium glaucum. Остальные плесневые грибы представлены чаще всего единичными колониями, относящимися к родам Мукор, Фузариум, Ризопус. На гуматной среде через 7—10 дней после посева появляются многочисленные мелкие (1—2 мм в диаметре), медленно растущие колонии актиномицетов. По строению колоний и особенностям роста они напоминают такие же колонии, обитающие на поверхности корней сеянцев сосны и обнаруживающиеся при микроскопическом изучении. Сходные колонии актиномицетов вырастают также при посеве смывов с корней сосны на агаризованные вытяжки из лесной хвойной подстилки или опавших березовых листьев. Наряду с этими грибками на гумусовой среде обнаруживается большое количество мелких колоний бактерий — дегуммификаторов, которые, так же как и актиномицеты, способны использовать и минерализовать гумус [1]. Для них характерен очень медленный рост, хотя при этом следует учитывать отсутствие в использованной среде почвенных растворов и корневых выделений, могущих изменять их поведение в естественных условиях ризосферы. Обе эти группы микроорганизмов, т. е. актиномицеты и бактерии-дегуммификаторы, представляют значительный интерес при изучении вопроса о питании древесных растений органическими веществами почвы, который необоснованно сужен до представлений об использовании перегноя лишь в процессе микотрофии.

Из других групп бактерий богато представлены в ризосфере сеянцев сосны аэробные гнилостные бактерии. По характеру колоний на МПА и другим культуральным признакам подавляющая часть аммонификаторов представлена Proteus. Опыты по совместному культивированию гнилостных бактерий и Penicillium glaucum, выделенных из ризосферы сеянцев, показали, что они находятся в определенном антагонизме. Среди гнилостных бактерий, обитающих на поверхности корней, имеются формы, способные вызвать быстрый лизис гиф плесеней. Тем самым эта группа бактерий может ограничивать поселение плесеней в ризосфере, а также участвовать в питании сеянцев продуктами разрушения белковых веществ плесеней. Это проявление антагонизма весьма важно. Дело

в том, что поселение гнилостных бактерий в ризосфере в больших количествах может быть неблагоприятным для нормального существования сеянцев. Наши опыты с внесением при посеве сосны белковых веществ (желатина, кровяная мука) показали, что при этом не наблюдается сколько-нибудь существенного увеличения роста сеянцев и, наоборот, часто наблюдалось ухудшение роста, что связано с появлением в почве большого количества аммиака за счет деятельности гнилостных бактерий. Такие явления отравления сеянцев наблюдаются, например, при внесении 5—10 г желатины на 1 м посевной борозды. Отмечается повреждение гнилостными бактериями корней таких ослабленных сеянцев. С другой стороны, избыточное поселение плесеней может быть также неблагоприятным для сеянцев. В природной обстановке между этими группами организмов в ризосфере устанавливается определенное равновесие.

Неоднократные попытки обнаружить в ризосфере сеянцев сосны бактерий аэробной азотфиксации положительных результатов не дали. При посеве смывов с корней на безазотистый силикагель Омелянского не наблюдался рост колоний типа азотобактера. Следует отметить, что для выявления этой группы агаровая среда Омелянского непригодна, так как даже при длительном выщелачивании агара в нем остаются питательные вещества, обусловливающие размножение разнообразных бактерий и плесеней.

На агаризированном экстракте из корней сеянцев сосны с добавлением глюкозы при посеве ризосферных смывов вырастает особенно большое количество колоний бактерий самых разнообразных типов. Среди них можно отметить наличие многочисленных колоний флуоресцирующих бактерий, преимущественно Pseud. fluorescens. Количество флуоресцирующих форм составляет 30—40% от общего количества сапрофитных бактерий. Наряду с ними в большом количестве встречаются Bac. mycoides, Bac. cereus, Bac. virgulus, Bac. mesentericus, Bac. subtilis.

Если сопоставить количество колоний в ризосфере немикоризных и микоризных сеянцев, то окажется, что у вторых сеянцев количество сапрофитных бактерий больше в 10—15 раз. Следовательно, при наличии микоризы значительно увеличивается количество бактерий в ризосфере сеянцев, а тем самым и их деятельность.

Интересные данные о взаимоотношениях микрофлоры ризосферы сеянцев сосны были получены нами при изучении «корневых отпечатков» по методу Холодного [20]. С этой целью сеянцы сосны высаживались в горшки с почвой, где недалеко от корней, ниже их, были закопаны предметные стекла. После того как корни сеянцев достигали стекол и росли некоторое время вдоль них по поверхности стекла, стекла откапывались, фиксировались, окрашивались эритрозином и отпечатки периферических частей корней, заселенные различными микробами, изучались микроскопически. На этих препаратах можно было наблюдать большое количество гиф, переходящих с поверхности почвенных частиц в корневые мочки и на микоризные сосущие корневые окончания. На поверхности многих гиф видны скопления почвенных бактерий, вызывающих их растворение. Часто наблюдается обрастание сосущих корневых окончаний довольно большим количеством бактериальных скоплений.

Выводы

1. Микоризные грибы оказывают влияние не только на сеянцы сосны, с корневой системой которых они сожительствуют, но и на режим в их ризосфере, в результате чего изменяется микрофлора последней.

2. В ризосфере сеянцев сосны на серых лесных почвах обнаруживается большое количество грибов, преимущественно плесневых, с резким преобладанием Penicillium glaucum, а также большое количество актино-

мицетов. В ризосфере микоризных растений количество грибов в 9—10 раз больше, чем у немикоризных. Некоторые грибы корней ризосферы выявляются лишь при отмирании корней.

3. На поверхности корня сосны и в ризосферной почве наблюдается большое количество бактерий-дегуммификаторов, которые наряду с актиномицетами, повидимому, участвуют в процессе питания сеянцев перегнойными веществами почвы и тем самым играют роль, сходную с ролью микоризообразующих грибов.

4. В ризосфере микоризных сеянцев имеются в большом количестве флуоресцирующие бактерии, миколитические и аммонифицирующие; азотфиксирующие аэробные бактерии отсутствуют.

5. Выявлено наличие антагонизма между гнилостными бактериями и плесенями ризосферы.

6. Питание сосны является не только микотрофным, но и бактериотрофным процессом. В микотрофном питании растений, кроме микоризных грибов, принимают участие плесневые грибы и актиномицеты.

Уральский лесотехнический институт
Свердловск

Получено 16.I.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Виноградский С. Н. Микробиология почвы. Изд. АН СССР, 1952.
2. Вавуло Ф. П. Тр. конференции по вопросам почвенной микробиологии. Изд. АН СССР, 1953, стр. 227.
3. Григорьева А. Р. Влияние азотобактерина на рост и плодоношение яблони. Дан Уз.ССР, № 3, стр. 41, 1951.
4. Келли А. Микотрофия у растений. Ин. лит., 1952.
5. Красильников Н. А. Микробиологические основы бактериальных удобрений. Изд-во АН СССР, 1945.
6. Красильников Н. А. Влияние растительного покрова на микробный состав почвы, Микробиология, XIII, вып. 5, 1944.
7. Красильников Н. А. Микроорганизмы и плодородие почвы. Изв. АН СССР, серия биол., № 2, стр. 14, 1954.
8. Красильников Н. А. Роль микроорганизмов в дополнительном питании растений. Успехи совр. биол., 33, вып. 3, стр. 321, 1952.
9. Лобанов Н. Б. Микотрофность древесных растений. Сов. наука, 1953.
10. Мантейфель А. Я., Жукова А. И. и Демьянова Э. К. Изучение микрофлоры ризосферы дуба. Микробиология, XIX, 546, 1950.
11. Пономарева А. В. Влияние азотобактера на рост сеянцев некоторых древесных пород и накопление хлорофилла в листьях. Изв. АН БССР, № 5, стр. 187, 1953.
12. Рейнер М. и Нельсон-Джонс В. Роль микориз в питании деревьев. Ин. лит., 1949.
13. Рубенчик Л. И., Черноблыльская М. Н. и Смалий В. Т. Применение азотобактерина под саженцы груш и яблонь. Микробиологический журнал УССР, 15, 32, 1953.
14. Рубин С. С. Удобрение плодовых и ягодных культур, Сельхозгиз, 1949.
15. Сборник. «Роль микроорганизмов в питании растений». Сельхозгиз, 1953.
16. Спиваковский П. Д. Удобрение плодовых и ягодных культур. Сельхозгиз, 1951.
17. Танатин В. Я. О наличии азотобактера в ризосфере некоторых древесных пород в почвах С. Таджикистана, Известия, отд. ест. наук АН Тадж. ССР № 2, стр. 7, 1953.
18. Трибунская А. Я. Применение азотобактериальных удобрений при выращивании сеянцев древесных растений. Сборник по лесоразведению. Гослесбумиздат, 1950, стр. 145.
19. Фомин А. Е. Влияние бактеризации и микоризации на рост древесных пород. Сборник «Роль микроорганизмов в питании растений», Сельхозгиз, 1953, стр. 52.
20. Холодный Н. Г. Среди природы и в лаборатории, 1949.

ЯВЛЕНИЕ СЕЗОННОЙ ПЕРИОДИЧНОСТИ РОСТА И РАЗВИТИЯ У ОДНОКЛЕТОЧНЫХ ЗЕЛЕНЫХ ВОДОРОСЛЕЙ

С. В. Горюнова и *М. В. Насонова*

Несмотря на большое количество исследований (Тимирязев [13], Любименко [9, 10], Максимов [11, 12] и мн. др.), вопрос светового питания растений до настоящего времени является одним из важнейших вопросов физиологии. Огромная роль зеленых растений в созидании органического вещества на Земле требует от ученых все большей и большей детализации процессов, связанных с изучением явлений фотосинтеза, явлений, для проявления которых в природе требуется наличие солнечного света.

Особенно большое практическое и теоретическое значение приобрели эти вопросы в условиях нашей советской действительности, в условиях необычайного подъема и расцвета всего сельского хозяйства.

Успешное разрешение некоторых разделов, связанных с проблемой светового питания растений, уже сейчас позволило значительно продвинуть на север многие сельскохозяйственные культуры, поставить на более высоком научном уровне теплично-парниковое хозяйство и т. д.

Но все достижения физиологической науки по вопросам светового питания связаны пока с высшими растениями, главным образом с ведущими сельскохозяйственными культурами. Вместе с тем наше многоотраслевое социалистическое хозяйство требует усиленного внимания ученых и по многим другим разделам знания. Так, для правильного решения многих вопросов гидробиологии, в частности для создания прочной кормовой базы не только для рыб, но и водоплавающей птицы, имеющей промышленное значение, в прудах, озерах и других водоемах, вопросы светового питания водорослей и высших водных растений играют существенную роль.

В мировой литературе действие света на водоросли представлено единичными работами. Наиболее полными из них являются исследования, проведенные Любименко [10], посвященные сравнительному изучению количественного соотношения пигментов у морских водорослей и высших растений.

Некоторые данные по проникновению отдельных лучей солнечного спектра в водную толщу морей и океанов приведены в работах Аттербека и других (цит. по Зенкевичу [6]).

Такое ограниченное число работ в этой области можно объяснить тем, что, во-первых, в прошлом эти вопросы представляли узкий теоретический интерес и не были связаны непосредственно с определенной отраслью хозяйства, во-вторых,— значительной трудностью экспериментирования в водной среде.

В настоящее время, в связи с значительным усовершенствованием техники светокультур высших растений (Клешнин [7, 8]), проведение таких исследований значительно облегчилось.

За последние годы нашими советскими учеными-гидробиологами (Гаевская [1, 2], Смирнов, цит. по Гаевской [2]) проведен уже ряд исследований по сравнительному изучению влияния различных искусственных источников освещения, в том числе и люминесцентных ламп (неоновых) на рост и развитие водорослей. В результате проведенных испытаний Гаевская, например [2], нашла возможным использовать эти лампы, при

очень простых установках, для массового получения культур одноклеточных зеленых водорослей.

Начиная свои исследования по изучению влияния света на рост и развитие пресноводных форм водорослей, мы из всей серии вопросов поставленной проблемы в первую очередь выбрали вопрос сезонной периодичности развития водорослей. Нас интересовало: существует ли в развитии водорослей так называемая периодичность, связанная с различными сезонами года, свойственная высшим растениям; или же замирание культур в лаборатории, а также и в водоемах, часто не покрытых льдом, в осенне-зимние месяцы, является следствием недостаточности освещения водной толщи; или же обусловлено другими причинами, например, температурными факторами, наличием питательных веществ и т. д. (Гусева [5]).

От правильности решения этого вопроса зависел успех всех дальнейших исследований, посвященных изучению светового питания водорослей, а также безупречность технической постановки опытов.

Естественно, что для облегчения решения поставленной задачи больше всего подходило искусственное освещение, позволяющее осуществить строгую регламентацию света. Ориентировочные опыты, проведенные нами в 1948—1949 гг. в Институте физиологии АН СССР в люминостатах Клешнина при его личной консультации, за что приносим ему глубокую благодарность, показали, что наиболее пригодными для этой цели, в смысле лучшего роста культур водорослей, подходили люминесцентные лампы тепло-белого света — Т-Б.

На основании этих опытов сконструированный нами специально для этих целей люминостат освещался этими лампами.

Экспериментальная часть

Для проведения данных исследований нами испытывались альгологически чистые культуры зеленых водорослей: Scenedesmus quadricauda, Ankistrodesmus Chodatii и Ankistrodesmus falcatus.

Выращивались водоросли в плоских тонкостенных флаконах иенского стекла на минеральной питательной среде, состав которой уже описан нами в предыдущих статьях (Горюнова [3, 4]).

Дозировки света везде были одинаковы и равнялись 1123 лк.

В люминостате постоянство интенсивности освещения достигалось путем установки определенного количества люминесцентных ламп и соблю-

Таблица 1

Количество клеток в 1 мл зеленых водорослей при освещении люминесцентными лампами

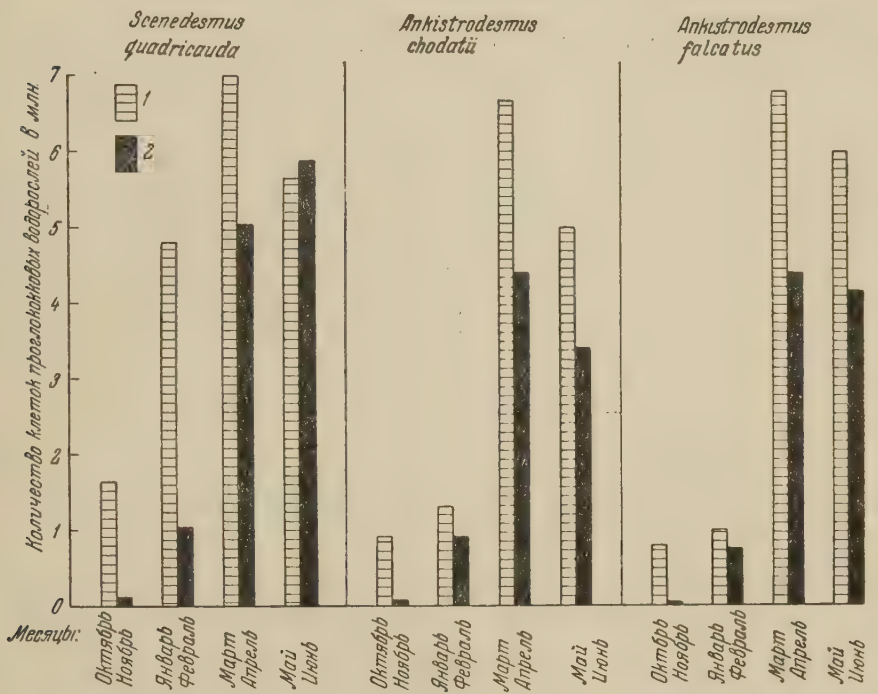
Дата подсчета клеток в культурах	число дней от начала опытов	Scenedesmus quadricauda			Ankistrodesmus Chodatii			Ankistrodesmus falcatus		
		24 часа	16 часов	8 часов	24 часа	16 часов	8 часов	24 часа	16 часов	8 часов
19.II	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
23.II	4	48 874	18 750	936	3 124	4 062	1 874	15 624	6 250	936
26.II	7	156 250	75 000	2 801	84 374	28 124	3 750	72 916	28 124	6 250
3.III	12	306 258	131 250	25 000	262 500	68 750	28 124	206 250	87 500	12 500
6.III	15	453 124	231 250	62 500	278 124	103 124	31 250	227 500	156 250	21 874
10.III	19	537 500	346 874	250 000	378 124	190 624	43 750	309 374	253 124	65 624
13.III	22	684 374	381 250	290 624	384 624	234 374	47 216	393 750	281 250	84 374
17.III	26	993 750	531 250	334 374	584 374	374 274	78 124	568 750	462 500	109 374
20.III	29	1 084 374	787 500	593 750	606 250	459 374	134 370	606 250	540 624	209 374
24.III	33	1 146 874	843 750	643 750	803 124	481 250	153 124	700 000	550 000	218 750
27.III	36	1 184 374	890 624	668 750	875 750	493 750	181 250	737 500	581 250	240 624

дения соответствующего расстояния между опытными флаконами с культурами водорослей и источниками света.

При дневном освещении в комнатной тепличке с окнами на юг в зимние месяцы эта дозировка поддерживалась дополнительным освещением обычными электрическими лампами (300 в), в соответствии с календарными часами зимнего дня.

Температурные условия были одинаковыми.

Посев культур производился одновременно. Обычно для опытов использовалась свежая накопительная культура, 1 мл которой разводился в 100 мл стерильной водопроводной воды. После тщательного перемеши-



Проявление сезонной периодичности роста и развития протококковых водорослей (возраст культуры 36 дней)

1 — культуры выращивались при люминесцентных лампах, *2*—культуры выращивались при дневном свете

вания из них бралось по 1 мл для засева опытных флаконов. Подсчеты клеток в культурах проводились через 3—4 дня в камере Тома. Каждый опыт ставился в нескольких повторностях.

Перед началом исследований были проведены предварительные опыты по выяснению влияния длительности искусственного освещения на рост и развитие водорослей.

Испытывалось освещение культур люминесцентными лампами в течение 8, 16 и 24 часов в сутки. Результаты испытаний представлены в табл. 1.

Согласно полученному цифровому материалу, в отличие от высших растений, для которых круглосуточное искусственное освещение иногда не только не дает прибавки зеленой массы растений, но часто даже и несколько снижает ее (Клешнин [7, 8]), для водорослей, по крайне мере в зимне-весенние месяцы, когда проводились данные опыты, освещение люминесцентными лампами в течение 24 часов благотворно влияло на урожай водорослей. Все другие, более короткие сроки экспозиции дали

меньший прирост клеток. Поэтому во всех своих дальнейших исследованиях мы применяли эти сроки освещения. Средние данные трехгодичных исследований сведены нами в табл. 2, 3, 4, 5 и на рисунке.

Таблица 2

Количество клеток в 1 мл зеленых водорослей при искусственном и дневном освещении

Октябрь — ноябрь

Дата подсчета клеток в культурах	Число дней от начала опытов	Scenedesmus quadricauda		Ankistrodesmus Chodatii		Ankistrodesmus falcatus	
		люминесцентные лампы (24 часа)	дневной свет	люминесцентные лампы (24 часа)	дневной свет	люминесцентные лампы (24 часа)	дневной свет
27.X	3	8 374	1 874	2 812	936	2 812	0
29.X	5	59 374	6 250	9 374	6 250	21 874	6 250
3.XI	10	242 624	15 624	125 000	6 250	205 250	6 250
6.XI	13	365 724	15 624	228 124	12 500	246 874	12 500
10.XI	17	546 874	21 974	343 750	12 500	287 500	12 500
13.XI	20	893 750	31 250	450 000	18 750	437 500	18 750
17.XI	24	1 437 500	46 874	509 374	28 124	560 624	25 000
20.XI	27	1 590 624	100 000	598 374	34 364	631 250	31 250
24.XI	31	1 750 000	106 250	637 500	40 624	678 124	37 500
27.XI	34	1 937 500	125 000	768 750	46 874	706 250	46 874
1.XII	38	2 153 124	137 500	837 500	53 124	887 500	50 000

Таблица 3

Количество клеток в 1 мл зеленых водорослей при искусственном и дневном освещении

Январь — февраль

Дата подсчета клеток в культурах	Число дней от начала опытов	Scenedesmus quadricauda		Ankistrodesmus Chodatii		Ankistrodesmus falcatus	
		люминесцентные лампы (24 часа)	дневной свет	люминесцентные лампы (24 часа)	дневной свет	люминесцентные лампы (24 часа)	дневной свет
26.I	1	1 406	465	1 874	152	936	62
29.I	3	59 375	3 125	31 250	2 812	40 624	5 000
2.II	7	460 937	39 062	121 074	12 500	137 500	18 850
5.II	10	468 750	184 375	265 624	41 666	265 624	71 874
9.II	14	1 006 250	221 875	375 000	78 124	478 124	125 000
12.II	17	1 040 625	250 000	409 374	121 874	481 250	165 624
16.II	21	1 223 437	287 500	584 374	171 874	553 124	209 374
19.II	24	1 315 625	365 625	637 500	231 250	606 250	250 000
23.II	28	2 500 000	548 437	700 000	237 500	871 874	443 750
26.II	31	3 125 000	685 937	840 624	471 874	1 040 624	615 624
2.III	35	3 593 750	918 750	959 374	737 500	1 150 000	809 374
5.III	38	4 531 250	1 025 000	1 109 374	793 750	1 337 500	943 740

Обобщая материалы проведенных исследований, мы должны отметить, что действительно в развитии испытанных нами форм водорослей в лабораторных культурах наблюдается строгая периодичность, связанная с определенным сезоном года. Несмотря на одинаковые температурные условия, обилие питательных веществ, интенсивное освещение, наилучшее развитие водорослей наблюдалось в весенние и раннелетние месяцы и, наоборот, очень слабое развитие их поздней осенью и в начале зимы.

Таблица 4

Количество клеток в 1 мл зеленых водорослей при искусственном и дневном освещении

Март — апрель

Дата подсчета клеток в культурах	Число дней от начала опытов	Scenedesmus quadricauda		Ankistrodesmus Chodatii		Ankistrodesmus falcatus	
		люминесцентные лампы (24 часа)	дневной свет	люминесцентные лампы (24 часа)	дневной свет	люминесцентные лампы (24 часа)	дневной свет
19.III	1	25 628	7 812	9 687	7 500	3 125	11 250
24.III	5	758 125	72 812	19 375	71 250	11 250	40 312
27.III	8	1 754 062	483 125	50 312	444 062	105 625	181 875
31.III	12	2 022 812	865 625	603 750	492 812	601 875	348 125
3.IV	15	2 174 062	1 412 500	1 288 750	499 375	1 949 687	522 187
7.IV	19	2 752 187	2 289 687	1 856 875	973 312	2 358 500	984 375
10.IV	22	3 833 125	3 443 375	4 018 437	3 051 562	3 879 687	3 354 062
14.IV	26	5 090 937	3 886 562	4 071 875	3 660 312	4 101 250	3 617 812
17.IV	29	6 143 750	4 193 750	5 029 062	4 215 312	4 972 187	3 904 375
21.IV	33	7 008 125	4 916 875	6 978 750	4 413 750	6 612 812	4 059 062
24.IV	36	7 049 375	5 063 125	6 960 937	4 431 875	6 617 500	4 335 937

Таблица 5

Количество клеток в 1 мл зеленых водорослей при искусственном и дневном освещении

Май — июль

Дата подсчета клеток в культурах	Число дней от начала опытов	Scenedesmus quadricauda		Ankistrodesmus Chodatii		Ankistrodesmus falcatus	
		люминесцентные лампы (24 часа)	дневной свет	люминесцентные лампы (24 часа)	дневной свет	люминесцентные лампы (24 часа)	дневной свет
25.V	2	3 350	3 125	3 906	3 125	4 875	4 687
28.V	5	56 937	70 312	17 812	14 580	14 375	31 250
31.V	8	999 750	325 000	120 312	75 000	116 562	93 062
4.VI	12	1 607 817	905 000	620 312	245 312	468 750	389 062
7.VI	15	1 759 370	1 090 000	1 240 628	462 500	1 493 800	460 937
11.VI	19	2 453 125	1 792 187	1 550 000	910 937	1 971 875	785 931
14.VI	22	3 095 312	2 631 250	2 867 387	2 296 875	3 040 625	2 637 500
18.VI	26	3 798 312	3 031 375	3 170 312	2 807 812	4 278 145	3 159 375
21.VI	29	5 153 125	3 864 012	3 814 370	3 184 687	4 784 375	3 410 927
25.VI	36	5 618 750	5 910 437	5 474 375	3 596 875	5 295 312	3 465 625

Согласно нашим исследованиям, эта сезонная периодичность свойственна не только вышеупомянутым видам водорослей, но и другим представителям этой группы организмов. Так, проводя наблюдения за ростом и развитием диатомовых водорослей (Synedra sp., Navicula sp.) и синезеленых (Oscillatoria splendida Grew и пять видов Formidium, привезенных С. И. Кузнецовым из горячих источников Камчатки и любезно предоставленных нам для работы, за что приносим ему глубокую благодарность), мы также всегда совершенно отчетливо регистрировали проявление этого свойства.

Наибольший эффект прироста их в лабораторных условиях в позднезимние и весенние месяцы имеет закономерный характер. Очевидно, воздействие теплых температур, аналогичных температурным условиям при-

родных водоемов в летние месяцы, способствует сокращению сроков покоя.

Насколько эта особенность постоянна, можно убедиться на примере метода «прогноза цветения», предложенного Францевым [14], который по существу базируется на этой закономерности.

Круглосуточное освещение люминесцентными лампами типа Т-Б все же дает возможность исследователю не прерывать физиологических наблюдений за водорослями и в зимне-осенние месяцы, но требует осторожности в оценке действия их в различные сезоны года, а возможно, и иных физиологических особенностей обмена, связанных с нарушением стадии покоя.

Выводы

1. В развитии водорослей в лабораторных условиях проявляется строго закономерное явление сезонной периодичности.

2. При учете проявлений этой закономерности применение люминесцентных ламп типа Т-Б значительно облегчает проведение научных наблюдений за водорослями в осенне-зимние месяцы.

3. Углубление дальнейших исследований в этой области может помочь разобраться и понять причины сезонной периодичности и смены форм водорослей в природных водоемах.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 25.IX.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гаевская Н. С. Опыт применения газосветных ламп для культивирования протококковых водорослей. Бюлл. Моск. об-ва испыт. природы, Отд. биологии, VII (4), 1952.
2. Гаевская Н. С. Выращивание массовых культур протококковых водорослей для рыбного хозяйства. Тр. Всес. гидробиол. об-ва, V, 1953.
3. Горюнова С. В. Получение бактериологически чистых культур при помощи комбинированных сред. Микробиология, XVII, вып. 4, 1948.
4. Горюнова С. В. Химический состав и прижизненные выделения синезеленой водоросли Oscillatoria splendida Grew. Изд-во АН СССР, 1950.
5. Гусева К. А. «Цветение» воды, его причины, прогноз и меры борьбы с ним. Тр. Всес. гидробиол. об-ва, IV, 1952.
6. Зенкевич Л. А. Фауна и биологическая продуктивность моря, т. 1, «Советская наука», 1951.
7. Клешнин А. Ф. Выращивание растений при искусственном освещении. Природа, октябрь, № 10, 1952.
8. Клешнин А. Ф. Выращивание растений при помощи люминесцентных ламп. Естествознание в школе, № 6, Учпедгиз, М., 1952.
9. Любименко В. Н. Материя и растение. Синтез органического вещества в растительном царстве. Изв. Росс. Акад. наук, Л., 1924.
10. Любименко В. Н. О количестве хлорофилла у морских водорослей. Изв. Естеств.-научного ин-та им. П. Ф. Лесгафта, X, 1924.
11. Максимов Н. А. Фотопериодизм (значение в жизни растения соотношения между продолжительностью дня и ночи). Тр. по прикладной ботанике и селекции, XIV, вып. 5, 1925.
12. Максимов Н. А. Фотосинтез растений. Изд-во АН СССР, 1949.
13. Тимирязев К. А. Об усвоении света растениями. Тр. СПб. об-ва естествоиспыт., VI, 1875.
14. Францев А. В. Опыт оценки гидробиологической производительности москворецкой воды. Микробиология, I, вып. 2, 1932.

ВЛИЯНИЕ АНТИСЕПТИКОВ НА ДРОЖЖИ

С. А. Коновалов

В настоящее время насчитывается большое количество антисептиков, применяемых в различных отраслях промышленности. К наиболее известным антисептикам, нашедшим широкое применение в пищевой промышленности и медицине, относятся сернистая кислота, хлор и хлористые соединения, формалин, фенол и его производные, четвертичные аммонийные соединения и др. Бактерицидные свойства каждого антисептика зависят не только от его химической природы, но и от условий действия: присутствия органических веществ, кислотности среды, температуры и т. д.

Поэтому антисептические свойства любого соединения следует испытывать в конкретных условиях. Каждая отрасль промышленности предъявляет к антисептику свои специфические требования. Так, например, для бродильной промышленности необходимы такие антисептики, которые наряду с высокобактерицидными свойствами не угнетали бы жизнедеятельности дрожжей и не снижали бы качества получаемого продукта и отходов производства (барды).

Многие из известных антисептиков (сернистый ангидрид, формалин, соли фтористоводородной кислоты и др.) не удовлетворяют вышеуказанным требованиям. В силу этих причин возникла необходимость в изыскании новых антисептиков. Кроме того, возросшая потребность в хорошем антисептике объясняется также и тем, что в настоящее время процессы брожения переводятся на непрерывные методы работы. При периодическом способе брожения осуществляются мероприятия, предупреждающие появление инфекции. С этой целью дезинфицируют зеленый солод (хлорной известью) или солодовое молоко (формалином), ведут дрожжи на специально подкисленных заторах, пропаривают коммуникацию и аппаратуру и т. д.

Однако никакие средства борьбы с инфекцией непосредственно в процессе самого брожения не используются. Если в этом не было прямой необходимости при периодическом методе брожения, то при непрерывном способе брожения такая необходимость очевидна.

За последнее время начинают находить практическое применение новые антисептики: трихлорфенолят и пентахлорфенолят натрия, бромистый цетилпиридиний и др.

Так, например, полихлорфеноляты натрия дали хорошие результаты при дезинфекции зеленого солода и солодового молока [3, 4, 5]. Пентахлорфенолят натрия с успехом применяется для обеззараживания патоки, идущей на сбраживание в спирт. Перспективным антисептиком оказался и бромистый цетилпиридиний [1, 2, 4, 5].

В задачу настоящей работы входило выяснение действия некоторых антисептиков на дрожжи, испытываемые при сбраживании пивного сусла или затора. Из антисептиков исследовались пентахлорфенолят натрия и бромистый цетилпиридиний. Влияние отдельных антисептиков на дрожжи устанавливалось при внесении в субстрат различного количества посевных дрожжей и при разной начальной его кислотности.

Методика

Влияние антисептиков на дрожжи испытывалось при сбраживании пивного сусла, содержащего 15—20% сухих веществ, или затора, содер-

жащего 15—16% сухих веществ, приготовляемого обычным способом [3, 5]. В среды, охлажденные до 30°, вносились дрожжи Saccharomyces cerevisiae XII расы. Сусло или затор искусственно инфицировалось настоем, получаемым из зеленого солода при 30° в течение суток. В опытные колбы вносилось по 1—3 мл слитой с солода инфицирующей жидкости или, в отдельных опытах, культуры молочнокислых бактерий. Для брожения применялось различное количество однодневной культуры дрожжей XII расы, выращенных при 30° на пивном сусле.

В отдельных опытах действие антисептика на дрожжи испытывалось при условии их размножения на субстрате, имеющем различную начальную кислотность, изменяющуюся в пределах от 0,1 до 0,5° Д.

Влияние пентахлорфенолята натрия на брожение

Сбраживание пивного сусла

При сбраживании сусла, содержащего пентахлорфенолят натрия даже в минимальных концентрациях, соответствующих 0,001—0,002%, заметно задерживается развитие кислотообразующих бактерий, в результате чего кислотность бражки или вовсе не изменялась в процессе брожения, или же повышалась весьма незначительно и составляла 0,2—0,5°, вместо 1,1—1,9° контрольных опытов (табл. 1). В то же время указанные дозировки антисептика заметно задерживали брожение, особенно в начальный его период (21 час). За последующее время брожения (45 и 66 часов) количество углекислоты, выделившейся из бражки с 0,001%-ным содержанием пентахлорфенолята натрия и из контрольной без антисептика, было одинаково (4,0—4,6 г). Более высокие, чем 0,001%, концентрации антисептика снижали скорость брожения за весь его период, а дозировки, соответствующие 0,01%, вообще приостанавливали брожение.

Таблица 1

Влияние различных концентраций пентахлорфенолята натрия на скорость сбраживания пивного сусла

№ опыта	Антисептик	Концентрация антисептика в %	Колич. выделившейся углекислоты из 100 мл в г		Кислотность в градусах Д
			за 21 час	за 66 часов	
1	Без антисептика	0	3,0	4,1*	1,10
	Пентахлорфенолят натрия . . .	0,001	1,7	4,0	0,30
		0,002	0,2	0,6	0,25
		0,004	0,1	0,5	0,20
2	Без антисептика	0	3,3	4,9	1,90
	Пентахлорфенолят натрия . . .	0,001	2,4	4,6	0,50
		0,005	0,0	1,4	0,40
		0,010	0,0	0,0	0,25

* Выделилась CO_2 за 45 часов брожения.

В других опытах необходимо было установить влияние пентахлорфенолята натрия на дрожжи при различном начальном содержании их в сусле. При этом количество посевной культуры дрожжей варьировалось от 0,6 до 14,6 млн. клеток в 1 мл среды. Антисептик применялся в трех концентрациях, а именно 0,001; 0,002 и 0,004%.

Полученные результаты, сведенные в табл. 2, еще раз подтвердили, что внесение в сусло даже минимальной концентрации антисептика, соот-

Таблица 2

Влияние пентахлорфенолята натрия на дрожжи при различном начальном их содержании в сусле

№ опыта	Концентрация антисептика в %	Колич. дрожжевых клеток в 1 мл бражки в миллионах		Колич. выделившейся углекислоты из 100 мл в г		Кислотность в градусах Д
		в начале брожения	в конце брожения	за 19 часов	за 65 часов	
1	0	0,60	32,0	0,6	2,0	1,70
	0	6,00	50,0	2,1	4,1	1,40
	0	12,00	48,5	3,6	4,7	1,10
	0,001	0,60	40,5	0,5	1,6	0,40
	0,001	6,00	48,5	2,1	3,6	0,30
	0,001	12,00	40,2	2,2	4,5	0,20
	0,002	0,60	16,0	0,1	0,7	0,35
	0,002	6,00	14,5	0,3	1,3	0,40
	0,002	12,00	35,0	0,7	3,5	0,15
	0,004	0,60	1,7	0,0	0,4	0,20
	0,004	6,00	5,0	0,0	0,4	0,15
	0,004	12,00	13,0	0,0	0,1	0,15
2	0,0	1,46	38,0	3,0	4,1	1,10
	0,0	14,62	77,7	3,9	4,4	0,90
	0,002	1,46	2,3	0,2	0,6	0,25
	0,002	14,62	52,7	2,3	4,2	0,20
	0,004	1,46	3,1	0,1	0,5	0,20
	0,004	14,62	10,6	0,1	0,7	0,20

ветствующей 0,001%, обеспечивает чистоту брожения; общая кислотность бражки соответствовала 0,2—0,4°. Размножение дрожжей протекало при этом с такой же скоростью, как и в бражке контрольных опытов.

Более высокие, чем 0,001%, концентрации пентахлорфенолята натрия заметно задерживали размножение дрожжей, а при внесении последних в малых количествах, равных 0,6—1,4 млн. в 1 мл начальной бражки, размножение клеток протекало весьма слабо или же оно вовсе отсутствовало. Концентрации антисептика, равные 0,004%, приостанавливали размножение дрожжей, даже при максимальном начальном их содержании в среде.

В прямой зависимости от количества дрожжевых клеток и степени их размножения находилась и интенсивность брожения. При 0,002%-ном содержании в сусле антисептика и условии максимального внесения посевных дрожжей скорость брожения была значительно выше, чем в аналогичных опытах с малым количеством дрожжей.

Так, например, за 65 часов брожения при большом начальном содержании дрожжей (12,0—14,6 млн. в 1 мл) выделилось из 100 мл бражки 3,5—4,2 г углекислоты, а при внесении малого количества дрожжевых клеток выделилось только 0,6—0,7 г углекислоты, т. е. в 5—7 раз меньше.

Таким образом, дозировки пентахлорфенолята натрия, соответствующие 0,001 и 0,002%, задерживают развитие инфекции и существенно не тормозят размножение дрожжей при условии содержания в 1 мл свежей бражки около 14 млн. клеток. При внесении в сусло меньшего количества посевных дрожжей наблюдается задержка их размножения и брожения. Полученные результаты можно объяснить способностью дрожжевой клетки адсорбировать на своей поверхности антисептик. При максимальном, в условиях наших опытов, начальном содержании дрожжей из среды

адсорбируется, естественно, больше антисептика, чем при малом количестве клеток.

Но на каждую клетку при этом будет приходиться меньшее количество антисептика.

В соответствии с вышесказанным, следует предполагать, что одинаковая концентрация антисептика в субстрате может по-разному влиять в зависимости от количества внесенных дрожжевых клеток. Дрожжевая клетка как бы «обезвреживает» для себя питательную среду и сама отравляется меньше, чем при условии небольшого содержания клеток в посевной культуре.

Сбраживание сусла с пентахлорфенолятом натрия, внесенным с солодовым молоком

Если водный раствор антисептика внести сначала в солодовое молоко, а потом уже, вместе с последним, внести в сусло, то угнетающее действие пентахлорфенолята натрия на дрожжи не проявляется, как это отмечалось в вышеописанных опытах. Органические вещества солодового молока адсорбируют антисептик, действие которого на бактерии при этом не устраняется. Поэтому при высокой концентрации в бражке пентахлорфенолята натрия, соответствующей 0,001—0,003%, брожение протекало весьма интенсивно и по скорости не отличалось от брожения контрольных сред, не содержащих антисептика (табл. 3). За 20 и 68 часов брожения из бражки всех вариантов опыта выделилось одинаковое количество углекислоты, соответствующее 5,2 и 5,8 г. Кислотность же бражки, полученной без антисептика, была в 2,5 раза выше, чем она была в бражке, содержащей антисептик.

Таблица 3

Сбраживание пивного сусла, осахаренного солодовым молоком, предварительно продезинфицированным пентахлорфенолятом натрия

Концентрация антисептика в %		Колич. выделившейся углекислоты из 100 мл в г		Кислотность в градусах Д
в солодовом молоке	в бражке	за 20 часов	за 68 часов	
0	0	5,2	5,8	0,75
0,1	0,01	5,2	5,8	0,30
0,3	0,03	5,2	5,9	0,30

Таким образом, угнетающее действие антисептика на дрожжи можно устранить путем внесения его предварительно в солодовое молоко, а затем уже с последним давать в сусло для брожения. При этом пентахлорфенолят натрия даже в относительно высоких концентрациях не угнетает размножения дрожжей и брожения и в то же время проявляет антисептическое действие против кислотообразующих бактерий.

Сбраживание сусла с дробиной

При сбраживании сусла с дробиной антисептик отрицательного действия на дрожжи не оказывал, в противоположность тому, что имело место при сбраживании одного сусла. Размножение дрожжей и брожение в субстрате с различными дозировками антисептика (0,001—0,003—0,005%) протекало с такой же интенсивностью, как и в опытах сбраживания сусла без антисептика. Например, за 19 часов брожения из 100 мл бражки выделилось одинаковое количество углекислоты, как и при сбраживании сусла с различным количеством антисептика, так и без него, а именно

4,7—4,9—5,2 г. Количество дрожжевых клеток колебалось в бражке, содержащей антисептик, от 71,0 до 101,0 млн. в 1 мл, а в бражке без антисептика — от 79,2 до 104,7 млн. (табл. 4), т. е. в этом опыте пентахлорфенолят натрия не тормозил размножения дрожжей, а следовательно, и брожения. В то же время антисептик заметно задерживал развитие молочнокислых бактерий, вследствие чего кислотность бражки, полученной в результате сбраживания сусла с пентахлорфенолятом натрия (0,003—0,005%) составляла 0,3—0,4°, тогда как в бражке контрольных опытов она равнялась 0,6—0,7—1,0°, т. е. была в 2—2,5 раза выше. Самые низкие дозировки антисептика, равные 0,001%, лишь слабо задерживали размножение молочнокислых бактерий, в результате чего кислотность бражки мало отличалась от кислотности бражки контрольных опытов и составляла 0,5—0,6—0,8°.

Таблица 4

Влияние пентахлорфенолята натрия на дрожжи при сбраживании сусла с дробиной *

Концентрация антисептика в %	Колич. дрожжевых клеток в 1 мл бражки в миллионах		Колич. выделившейся углекислоты из 100 мл в г		Кислотность в градусах Д	Колич. бактериальных клеток в 1 мл в миллионах
	в начале брожения	в конце брожения	за 22 часа	за 50 часов		
0	1,3	79,2	4,9	5,1	1,0	276,0
0	6,5	98,2	5,1	5,3	0,7	113,7
0	13,0	104,7	5,2	5,4	0,6	74,7
0,001	1,3	86,7	5,0	5,3	0,8	117,2
0,001	6,5	101,0	5,2	5,3	0,6	105,0
0,001	13,0	74,2	5,1	5,3	0,5	56,0
0,003	1,3	91,7	4,7	5,2	0,4	32,0
0,003	6,5	87,7	5,0	5,2	0,4	29,5
0,003	13,0	73,2	5,2	5,4	0,4	31,5
0,005	1,3	85,5	4,7	5,2	0,3	21,2
0,005	6,5	71,0	4,9	5,2	0,3	15,7
0,005	13,0	84,7	4,9	5,2	0,3	21,0

* Сусло содержало 18% сухих веществ по сахарометру. В качестве источника инфекции вносилась чистая культура молочнокислых бактерий.

Сбраживание крахмалистых заторов

Экспериментально установлено, что для обеспечения относительной стерильности процесса брожения крахмалистого сырья требуются более высокие концентрации пентахлорфенолята натрия, чем при применении сусла. Это объясняется тем, что часть антисептика адсорбируется органическими веществами среды. Если при сбраживании сусла оптимальной дозировкой пентахлорфенолята натрия, угнетающей развитие кислотообразующих бактерий и не задерживающей размножения дрожжей и брожения, является 0,001—0,002%, то при сбраживании крахмалистых заторов требуется другая, более высокая концентрация антисептика, равная 0,02—0,3%.

При указанной оптимальной концентрации пентахлорфенолята натрия кислотность бражки не превышала 0,25° Д (табл. 5).

Таблица 5

Сбраживание ржаного затора с добавлением различных количеств пентахлорфенолята натрия

№ опыта	Концентрация антисептика в %	Количество выделившейся CO_2 из 100 мл в г		Кислотность в градусах Д	Колич. дрожжевых клеток в 1 мл в млн.
		за 40 часов	за 64 часа		
1	0	6,7	7,1	0,70	77,5
	0,01	6,9	7,4	0,50	67,5
	0,02	7,0	7,4	0,25	64,5
	0,02	7,1	7,6	0,25	79,5
	0,03	6,7	7,3	0,15	58,0
	0,03	6,8	7,2	0,20	66,0
	0,04	6,9	7,2	0,15	72,0
	0,04	6,9	7,2	0,15	88,0
2	0	5,6*	6,1	1,50	
	0,05	6,1	6,9	0,20	
	0,10	1,6	5,6	0,20	
	0,20	1,0	1,7	0,20	

* Выделилась CO_2 за 25 часов брожения.

Таблица 6

Влияние пентахлорфенолята натрия на дрожжи при различных начальных количествах их в заторе

№ опыта	Концентрация антисептика в %	Колич. дрожжевых клеток в 1 мл субстрата в начале брожения в млн.	Колич. выделившейся углекислоты из 100 мл в г			Кислотность в градусах Д
			за 19 часов	за 25 часов	за 65 часов	
5	0	0,7	2,7	4,5	5,2	1,6
	0	6,0	5,2	5,5	5,9	1,5
	0	12,0	5,3	5,6	6,0	1,5
6	0,05	0,6	1,0	2,3	5,5	0,9
	0,05	6,0	3,1	5,0	6,6	0,4
	0,05	12,0	5,2	6,1	6,9	0,1
7	0,1	0,6	0,1	0,3	3,9	0,3
	0,1	6,0	0,2	0,9	3,7	0,3
	0,1	12,0	0,8	1,6	5,6	0,3
8	0,2	0,6	0,0	0,5	1,3	0,3
	0,2	6,0	0,2	0,8	1,4	0,3
	0,2	12,0	0,3	1,0	1,7	0,3

Если дозировку антисептика повысить с 0,03 до 0,05%, то при внесении в затор малого количества посевных дрожжей, соответствующего 0,6 млн. в 1 мл начальной бражки, брожение задерживается (табл. 6). Однако с увеличением в субстрате начального содержания дрожжевых клеток до 12 млн. в 1 мл интенсивность брожения, учитываемая по количеству выделившейся углекислоты, не снижается по сравнению с контролем (табл. 6 и 7).

Дозировки антисептика 0,1—0,2% задерживали как размножение дрожжей, так и брожение.

Таблица 7

Сбраживание ржаного затора с добавлением различных количеств пентахлорфенолята натрия

Концентрация антисептика в %	Колич. выделившейся CO_2 из 100 мл в г				Сахар в 100 мл в г		Спирта в %	Колич. дрожжевых клеток в 1 мл в млн. ***	Кислотность в градусах Д
	за 16 часов	за 24 часа	за 40 часов	за 64 часа	до гидролиза *	после гидролиза **			
0	4,9	6,1	6,6	6,9	0,38	0,81	8,16	99,5	0,2
0,02	4,3	6,0	6,8	7,1	0,39	0,78	8,28	72,5	0,1
0,03	5,1	6,3	6,8	7,0	0,46	0,84	8,25	67,0	0,1
0,05	3,2	5,5	6,5	7,0	0,45	0,87	8,26	59,5	0,1
0,10	0,7	2,4	5,6	6,2	1,61	2,06	7,09	41,5	0,1

* Рассчитан на мальтозу.
** Рассчитан на глюкозу с внесением поправки на пентозаны (0,8%).
*** В начале опыта в 1 мл бражки содержалось 13,4 млн. дрожжевых клеток.

Сбраживание заторов с различной кислотностью

В практике спиртового производства размножение дрожжей осуществляется на сильно подкисленных заторах (0,8—1°), вследствие чего имеет место большой расход серной кислоты, которая является дефицитным реактивом. Кроме того, высокая кислотность субстрата в свою очередь оказывает отрицательное действие на жизнедеятельность дрожжей, снижая их способность к размножению.

Таблица 8

Влияние начальной кислотности затора на антисептические свойства пентахлорфенолята натрия при размножении дрожжей

№ опыта	Концентрация антисептика в %	Кислотность в градусах Д		Колич. выделившейся CO_2 100 мл в г		Нарастание кислотности в градусах Д	Колич. бактерий в 1 мл бражки в млн.	Колич. дрожжевых клеток в 1 мл в млн. *
		в заторе	в бражке	за 40 часов	за 64 часа			
9	0	0,10	1,10	5,6	5,8	1,0	97,0	77,0
	0,01	0,10	0,90	5,9	5,9	0,8	100,0	69,2
	0,03	0,10	0,30	6,1	6,4	0,2	36,7	65,0
10	0	0,24	0,75	5,6	5,9	0,51	55,2	79,0
	0,01	0,24	0,50	6,1	6,4	0,26	36,7	75,2
	0,03	0,24	0,25	5,9	6,4	0,01	24,0	60,7
11	0	0,34	1,10	5,8	6,1	0,76	17,7	68,2
	0,01	0,34	0,55	5,9	6,2	0,21	7,2	72,0
	0,03	0,34	0,35	6,0	6,3	0,01	6,7	56,2
12	0	0,50	0,65	4,9	5,3	0,15	16,2	70,5
	0,01	0,50	0,50	5,4	5,8	0	10,7	75,2
	0,03	0,50	0,45	5,7	6,1	0	2,7	61,5

* В начале опыта в 1 мл субстрата содержалось 7,72 млн. дрожжевых клеток и 7,7 млн. бактерий.

Внесение в дрожжевые заторы пентахлорфенолята натрия позволит или вообще устранить серную кислоту или же существенно сократить ее расход.

Если кислотность обычно приготовленного затора равняется 0,1°, то дополнительное подкисление его серной кислотой до 0,24° уже обеспечивает относительную стерильность брожения при внесении антисептика в количестве 0,01%. За весь период брожения нарастание кислотности бражки составило лишь 0,26°, вместо 0,51° контрольного опыта (табл. 8). Повидимому, указанную дозировку (0,01%) пентахлорфенолята натрия возможно снизить примерно до 0,005%.

Влияние бромистого цетилпиридиния на брожение

При сбраживании сусла, содержащего бромистый цетилпиридиний в концентрациях, соответствующих 0,006—0,001%, развитие инфекции про-

Таблица 9

Влияние бромистого цетилпиридиния на сбраживание пивного сусла и затора

№ опыта	Антисептик	Концентрация антисептика в %	Колич. выделившейся углекислоты из 100 мл в г		Кислотность в градусах Д	Примечание
			за 18 часов	за 54 часа		
1	Без антисептика	0	2,7	3,7	0,90	
	Бромистый цетилпиридиний	0,0006	3,2	4,3	0,50	Сусло
		0,0010	2,8	4,0	0,30	
2	Без антисептика	0	2,9	3,2	1,20	
	Бромистый цетилпиридиний	0,0010	2,7	3,6	0,60	
		0,0010	3,2	3,7	0,60	
		0,0014	2,6	3,7	0,30	Сусло
		0,0014	2,7	3,6	0,35	
		0,0020	1,8	3,5	0,30	
		0,0020	2,6	3,7	0,30	
3	Без антисептика	0	6,1	6,7	0,80	
	Бромистый цетилпиридиний	0,0200	6,2	6,6	0,80	
		0,0500	6,0	6,6	0,60	Затор
		0,0800	6,1	6,7	0,40	
	Сернистый ангидрид	0,0200	6,1	6,7	0,35	

текает в два-три раза слабее, чем в бражке, не содержащей антисептика. Оптимальной дозировкой антисептика, подавляющей развитие кислотообразующих бактерий и не сказывающейся отрицательно на брожении, можно считать 0,0014% (опыт 9); при этом кислотность бражки равнялась 0,3—0,35 °Д против 1,2° контроля.

При сбраживании заторов требуется более высокая дозировка антисептика, чем та, какая необходима для брожения пивного сусла. Оптимальная концентрация бромистого цетилпиридиния равняется 0,08%. При этой дозировке антисептика кислотность бражки соответствовала кислотности, полученной при сбраживании заторов с оптимальной концентрацией сернистого ангидрида, и равнялась 0,4°, в то время как кислотность бражки контрольного опыта равнялась 0,8° (табл. 9).

Таким образом, при сбраживании заторов оптимальная концентрация антисептика должна быть в шесть раз выше, чем при сбраживании сусла.

Кроме того, оптимальная концентрация бромистого цетилпиридиния (0,08%) почти в три раза выше, чем пентахлорфенолята натрия.

Оптимальные дозировки указанных антисептиков обеспечивают относительную стерильность брожения при длительности его в 52—72 часа.

Выводы

1. Пентахлорфенолят натрия и бромистый цетилпиридиний являются весьма эффективными антисептиками против кислотообразующих бактерий.

2. Указанные соединения могут быть применены в качестве антисептика при спиртовом брожении. Оптимальными концентрациями, подавляющими развитие бактерий, при сбраживании пивного сусла являются 0,001% для пентахлорфенолята натрия и 0,0014% для бромистого цетилпиридиния; при сбраживании крахмалистых заторов оптимальные дозировки соответствуют 0,02—0,03% для пентахлорфенолята натрия и 0,08% для бромистого цетилпиридиния.

3. Угнетающее действие антисептиков на дрожжи при сбраживании фильтрованного пивного сусла устраняется путем внесения в субстрат большого количества посевных дрожжей или путем предварительного растворения антисептика в солодовом молоке с последующим внесением его в сусло.

4. Концентрации пентахлорфенолята натрия (0,003—0,005%), подавляющие размножение дрожжей при сбраживании фильтрованного сусла, не оказывают отрицательного действия на дрожжевую клетку при условии применения сусла с дробиной.

Всесоюзный научно-исследовательский институт спиртовой промышленности
Москва

Получено 10.VIII.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вербина Н. М. Приучение дрожжей к антисептикам различными методами. Диссертация, Микробиологический институт АН СССР. 1954.
2. Комарова Л. И. Влияние четвертичных аммонийных соединений на дрожжи при различных условиях. Микробиология, XXII, вып. 5, 1953.
3. Коновалов С. А. Эффективный антисептик против кислотообразующих бактерий. Микробиология, XXII, вып. 5, 1953.
4. Коновалов С. А. Влияние некоторых антисептиков на амилазную активность солода. Микробиология, XXII, вып. 6, 1953.
5 Коновалов С. А., Комарова Л. И., Бородкина В. В. и Вербина Н. М. Выбор нового антисептика для спиртовой промышленности. Отчет Всес. н.-иссл. ин-та спиртовой промышленности. 1951.

ВЛИЯНИЕ ВНЕШНИХ ФАКТОРОВ НА ТЕМПЕРАТУРНЫЙ КОЭФФИЦИЕНТ СКОРОСТИ АЦЕТОНО-БУТИЛОВОГО БРОЖЕНИЯ

Л. И. Комарова

Предыдущими нашими исследованиями [6] было установлено, что видимое ускорение спиртового брожения при повышении температуры от 20 до 30° обусловлено не только специфическим действием тепла, но и усилением естественной конвекции, которая способствует повышению концентрации реагирующих веществ в сфере реакции.

Падение температурного коэффициента при искусственном перемешивании [5] полностью подтверждает данное положение.

При выяснении механизма действия повышенных температур на скорость химических процессов, вызываемых микроорганизмами, нужно также иметь в виду и то обстоятельство, что при брожении при пониженной температуре концентрация клеток в среде меньше, чем при брожении при оптимальной температуре. Это также говорит о том, что не все видимое ускорение брожения при повышении температуры можно отнести за счет специфического действия тепла, а часть ускорения следует отнести за счет повышения концентрации реагирующих компонентов в среде или в отдельных ее участках.

Задачей настоящей работы было установление влияния некоторых внешних факторов на температурный коэффициент ацетоно-бутилового брожения и рассмотрение причин, могущих обуславливать высокие температурные коэффициенты данного брожения.

Методика работы

Ацетоно-бутиловое брожение проводилось на хлебных заторах. Споры Clostridium acetobutylicum из ампул сначала переносились на 6%-ный ржаной затор, а после 24-часового выращивания при 37° культура пересевалась в количестве 2% в опытные сосуды, содержащие по 300 мл 8%-ного мучного затора.

Сосуды закрывались клапанами Мейсля, и динамика брожения определялась по количеству выделившихся газообразных продуктов. После окончания брожения в бражке определялось содержание ацетона по методу Мессингера и содержание бутилового спирта по методу Бехтеревой и Иерусалимского [1]. Скорость диффузии углеводов определялась в диффузиометрах Эгольма. Брожение в диффузиометрах проводилось в стерильных условиях, причем в этом случае для сбраживания бралась прозрачная часть стерильного затора. В диффузиометры помещалось 10 мл среды, и на них наслаивалось 30 мл воды. Через определенные промежутки времени содержимое диффузиометров послойно сливалось в мерные колбочки на 10 мл. Количество углеводов определялось по Бертрану после двухчасового гидролиза 2%-ной HCl и рассчитывалось на глюкозу.

Подсчет клеток производился в счетной камере Тома. Скорость движения бактерий определялась при помощи окулярного микрометра. Острые кратковременные опыты проводились в трубках Клейвера. Для этого 18-часовая культура ацетоно-бутиловых бактерий, выращенная на 6%-ном ржаном заторе, отделялась от взвешенных частиц затора путем фильтрования через марлю. Полученный таким образом фильтрат,

содержащий бактерии, подвергался центрифугированию. После осаждения клеток жидкая часть затора сливалась, и к осадку бактерий добавлялась свежая среда (прозрачная часть 6%-ного ржаного затора).

Полученная густая взвесь бактерий заливалась по 1 мл в трубки Клейвера, которые помещались в термостаты при различной температуре.

Отмеривание объемов выделившихся газов производилось при приведении ртути в обоих коленах трубки к одному уровню. При подсчете полученные объемы газов приводились к нормальному давлению (760 мм рт. ст.) и температуре (0°) по таблицам [2] и по формуле

$$\frac{v_1 P_t}{T_1} = \frac{v_0 P_0}{T_0}.$$

Влияние температуры на скорость ацетоно-бутилового брожения

Разработка наиболее благоприятного температурного режима имеет большое значение для ацетоно-бутилового производства. Так, исследования, проведенные Мантейфель и Антышевой [8], показали, что отношение бутилового спирта к ацетону при ацетоно-бутиловом брожении можно несколько повысить путем сбраживания заторов при пониженной температуре. В связи с этим выявилась необходимость изучения температурного коэффициента ацетоно-бутилового брожения.

Наши опыты показали, что изменение температуры резко влияет на изменение скорости ацетоно-бутилового брожения (рис. 1). Температурный коэффициент ацетоно-бутилового брожения Q_7 равен 2—4 и более, доходя в ряде случаев до 10.

Наиболее высоким температурный коэффициент является в первые периоды брожения, когда клеток в среде мало и скорость естественного перемешивания невелика (табл. 1).

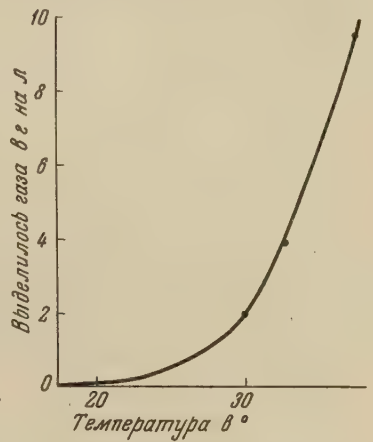


Рис. 1. Зависимость скорости ацетоно-бутилового брожения от температур (20% культуры, продолжительность брожения 12 часов)

При повышении температуры от 23 до 37° наблюдается падение температурного коэффициента ацетоно-бутилового брожения (табл. 2).

Температурный коэффициент кислотообразования Q_7 также равен 3 и более. Перегиб кислотности при пониженной температуре (30°) происходит значительно позднее, чем при 37° (табл. 3).

Высокий температурный коэффициент ацетоно-бутилового брожения ставит серьезные препятствия для проведения брожения в производстве при пониженных температурах, так как это вызывает увеличение длительности процесса и емкости бродильной посуды.

При выяснении причин резкого повышения скорости ацетоно-бутилового брожения при повышении температуры интересно было установить, можно ли весь видимый эффект в ускорении химического превращения веществ отнести за счет специфического действия тепла, или часть видимого ускорения брожения можно отнести за счет действия других сопутствующих факторов.

Опыты показали, что ускорение брожения при повышении температуры обусловлено не только специфическим действием повышенных температур, а является результатом действия двух различных факторов: специфического действия тепла и повышенных концентраций реагирующих компонентов.

Таблица 1

Влияние температуры на ацетоно-бутиловое брожение (8%-ный ржаной затор 2% культуры)

№ опыта	Температура в°	Количество газа в граммах на 1 л среды							Количество растворителей в граммах на 1 л бражки			
		часы брожения										
		12	темпер. коэфф. Q_t	24	темпер. коэфф. Q_t	36	60	84	ацетон	бутанол	этанол	сумма
1	37	8,3	4,14	22,0	2,86	28,0	30,7	30,7	6,19	11,50	1,19	18,93
	30	2,0		7,7		21,0	27,7	30,7	4,95	10,69	1,46	17,10
2	37	10,0	4,35	21,8	3,25	27,6	30,2	30,2	4,40	8,16	2,30	14,86
	30	2,3		6,7		15,6	27,6	30,2	4,60	8,37	2,30	15,77
3	37	9,5	4,75	19,2	3,0	27,2	29,8	30,0	4,40	7,94	2,30	14,64
	30	2,0		6,4		15,2	28,9	30,3	4,64	8,87	2,30	15,81

Таблица 2

Падение температурного коэффициента ацетоно-бутилового брожения при повышении температуры

№ опыта	Температура в°	Выделилось газа в г на 1 л за 24 часа	Температурный коэффициент Q_t	Выделилось газа в г на 1 л за 36 часов	Температурный коэффициант Q_t
1	37	16,7	3,9	28	1,8
	30	4,3	8,6	15,4	8,1
	23	0,5		1,9	
2	37	18,3	2,7	30,0	2,1
	30	6,3	10	14,2	8,3
	23	0,6		1,7	

Таблица 3

Влияние температуры на кислотообразование в ацетоно-бутиловом брожении (8%-ный ржаной затор)

Температура в°	Кислотность 10 мл бражки в 1 мл 0,1 N раствора NaOH								
	часы брожения								
	8	10	12	14	18	20	22	24	26
37	3,2	4,8	5,1	5,3	4,8	3,6	3,0	2,4	3,3
30	1,0	1,2	2,4	3,8	5,4	6,0	6,1	6,0	4,0

Повышение концентрации реагирующих компонентов при протекании брожения при повышенной температуре происходит прежде всего за счет увеличения количества клеток, а также за счет усиления естественной конвекции, приводящей к повышению концентрации реагирующих веществ в сфере реакции.

Действительно, при ведении брожения при 37° количество клеток в среде через определенный промежуток времени больше, чем при ведении брожения при пониженной температуре. Так, при проведении ацетоно-бутилового брожения при 37° количество клеток через 12 часов брожения более чем в три раза превышает количество клеток при сбраживании затора при 30° (табл. 4).

Таблица 4

Влияние температуры на накопление в среде ацетоно-бутиловых бактерий (8%-ный ржаной затор)

№ опыта	Температура в °	Часы брожения	Колич. клеток в начале опыта в 1 мл в млн.	Колич. клеток в конце опыта в 1 мл в млн	Темпер. коэфф. размножения Q_7	Поднятие затора
1	37	12	48	600	4,0	Поднят
	30	12	48	186		Нет
2	37	16	50	640	2,0	Поднят
	30	16	50	320	2,6	»
	23	16	50	120		Нет

Это увеличение количества клеток в свою очередь ведет к ускорению ацетоно-бутилового брожения. Значительное влияние количества культуры на скорость ацетоно-бутилового брожения можно видеть из табл. 5.

Таблица 5

Влияние количества культуры на ацетоно-бутиловое брожение (8%-ный кукурузный затор)

% культуры по объему	Колич. газа в граммах на 1 л бражки					Колич. растворителей в граммах на 1 л бражки			
	часы брожения					ацетон	бутанол	этанол	сумма растворителей
	12	38	60	84	96				
0,5	5,0	16,8	25,0	28,3	30,0	5,42	10,38	1,40	17,10
1	6,0	16,8	25,0	29,0	30,0	5,48	10,59	1,38	17,45
2	9,3	17,3	26,9	30,0	30,0	5,56	10,10	1,42	17,08
5	10,1	18,6	26,9	30,0	30,0	5,45	10,32	1,43	17,20
10	14,3	20,0	27,6	31,6	31,6	5,55	10,34	1,36	17,25

Это значит, что видимое ускорение брожения при повышении температуры обуславливается не только нагревом и активацией молекул, но и количеством (концентрацией) бактерий. Кроме того, скорость естественного перемешивания при сбраживании сусла при 30° в 2—3 раза меньше, чем при сбраживании при 37°, что также влияет на скорость брожения.

Влияние количества клеток на температурный коэффициент ацетоно-бутилового брожения

В связи с тем, что ускорение ацетоно-бутилового брожения при повышении температуры частично обуславливается накоплением больших ко-

личеств клеток в среде, можно было ожидать снижение температурного коэффициента при увеличении количества посевной культуры бактерий. Действительно, опыт показал, что при увеличении количества клеток температурный коэффициент ацетоно-бутилового брожения падает (табл. 6).

Таблица 6

Изменение температурного коэффициента ацетоно-бутилового брожения при посеве различных количеств культуры (8%-ный ржаной затор)

Температура в °	Колич. культуры в %	Колич. газа в граммах на 1 л среды								Колич. растворителей в граммах на 1 л бражки	
		часы брожения									
		12	темпер. коэфф. Q_2	20	темпер. коэфф. Q_7	36	48	60	72	ацетон	бутиловый спирт
37	0,5	5,00	3,1	16,5	3,9	25,0	28,3	30,0	30,0	5,73	11,21
30	0,5	1,6		4,33		20,0	23,3	26,6	27,6	5,50	10,20
37	2,0	9,3	2,8	13,3	3,4	26,9	30,0	30,0	30,0	5,38	10,32
30	2,0	3,3		5,7		21,0	24,3	28,0	30,0	4,64	12,06
37	10,0	14,3	1,7	20,0	1,4	27,6	31,6	32,0	32,6	5,41	11,19
30	10,0	8,3		14,3		23,6	26,0	28,6	32,0	5,09	10,52

Так, при посеве 0,5% культуры температурный коэффициент Q_7 равен 3,1, при посеве 2% культуры равен 2,8, а при посеве 10% температурный коэффициент скорости ацетоно-бутилового брожения падает до 1,7.

В острых кратковременных опытах, проведенных с большим количеством бактерий, где размножение клеток было почти исключено, температурный коэффициент был значительно ниже температурного коэффициента, полученного в опытах, проведенных с малым количеством бактерий. Так, при повышении температуры от 30 до 37° температурный коэффи-

Таблица 7

Температурный коэффициент ацетоно-бутилового брожения, найденный в острых опытах (первоначальное количество клеток 4800 млн. в 1 мл)

Температура в °	Через 45 мигут		Через 1 час		Через 1,5 часа		Через 2 часа		Среднее значение темпер. коэфф. Q_7
	объем выделившегося газа в мл	темпер. коэфф. Q_7	объем выделившегося газа в мл	темпер. коэфф. Q_7	объем выделившегося газа в мл	темпер. коэфф. Q_7	объем выделившегося газа в мл	темпер. коэфф. Q_7	
37	2,3	1,44	3,5	1,35	5,46	1,33	7,5	1,44	1,39
30	1,6		2,6		4,1		5,2		
23	0,9	1,78	1,3	2,0	1,67	2,46	2 2	2,37	2,15

циент ацетоно-бутилового брожения в среднем был равен 1,39, а при повышении температуры от 23 до 37° температурный коэффициент был равен 2,15.

Падение температурного коэффициента при увеличении количества клеток позволяет говорить о том, что в обычных условиях, применяемых

в производстве, где берется при посеве всего 2% культуры, видимый температурный коэффициент брожения можно приближенно считать произведением температурного коэффициента брожения на температурный коэффициент размножения.

Хотя в острых опытах наблюдалось некоторое падение температурного коэффициента с повышением температуры, однако оно было менее значительным, чем в опытах с малым количеством бактерий. Так, если в первых опытах, проведенных с 2% культуры (табл. 2), температурный коэффициент при повышении температуры от 23 до 30° был в 2—4 раза больше температурного коэффициента при повышении температуры от 30 до 37°, то в острых опытах он соответственно был больше лишь в 1,2—1,8 раза (табл. 7, рис. 2).

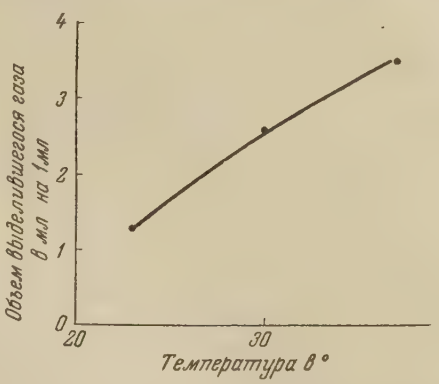


Рис. 2. Зависимость скорости ацетоно-бутилового брожения от температур по данным острых опытов (количество клеток в начале опыта 4800 тыс. в 1 мл, продолжительность брожения 1 час)

Все это говорит о том, что увеличением количества клеток можно не только снизить температурный коэффициент ацетоно-бутилового брожения, но и уменьшить степень его увеличения при понижении температуры. Однако некоторая разница в температурном коэффициенте в различных интервалах температур в острых опытах все же остается. Это позволяет говорить о том, что существует еще какой-то побочный фактор, усиливающийся при повышении температуры. Этим фактором, по всей вероятности, является естественная конвекция, способствующая повышению концентрации реагирующих веществ в зонах реакции.

Усиление естественной конвекции при повышении температуры

При изучении сущности температурного ускорения химических процессов, вызываемых микроорганизмами, необходимо учитывать не только концентрацию клеток в среде, но и концентрацию реагирующих веществ около каждой клетки. Поскольку скорость потребления веществ клеткой обычно во много раз выше скорости диффузии, постольку клетки почти всегда испытывают голодание (Иерусалимский [3]).

Температурный коэффициент молекулярной диффузии очень мал (1,2—1,4). Следовательно, концентрация веществ около клетки под влиянием ускорения молекулярной диффузии при повышении температуры возрастает слабо. Напротив, температурный коэффициент конвективной диффузии высок (2—3 и более). Это можно было видеть хотя бы из того, что увеличение концентраций в различных слоях диффузиометра под влиянием естественной конвекции происходит при 37° в 2—3 раза скорее, чем при 30° (табл. 8).

О том, что естественная конвекция играет существенную роль в динамике ацетоно-бутилового брожения, говорит ряд фактов. Хотя мы знаем, что малые размеры бактериальных клеток и их способность к самостоятельному движению способствуют притоку к клеткам свежих питательных веществ, однако скорость этих процессов незначительна.

Сопоставляя скорость подъема пузырьков газообразных продуктов реакции, обуславливающих естественную конвекцию и увлекающих за собой бактериальные клетки, со скоростью самостоятельного движения бактерий, мы находим, что последняя во много раз меньше скорости движения бактерий, вызванного естественной конвекцией (табл. 9).

Таблица 8

Влияние температуры на скорость диффузии углеводов в бродящих и небродящих средах

Среда	Брожение	Температура в °	Часы диффузии	Колич. глюкозы в граммах на 100 мл				Естеств. конвекция	Темпер. коэфф. диффузии
				слои диффузиометра					
				I	II	III	IV		
8%-ный ржаной затор	Ацетоно-бутиловое	37	12	1,26	1,10	0,96	0,92	Бурная	2—3 и более
То же	То же	30	12	3,20	1,28	0,26	0,10	Слабая	
„ „	„ „	30	36	1,20	1,06	0,98	0,94	„	
5%-ный раствор глюкозы	Отсутствует	37	24	3,62	1,12	0,18	0,05	Отсутствует	1,4
То же	„	30	24	3,82	1,10	0,04	0,02	То же	

Таблица 9

Сопоставление скорости движения ацетоно-бутиловых бактерий и скорости движения пузырьков газа в различные периоды брожения (8%-ный ржаной затор при 37°)

Часы брожения	Колич. клеток в 1 мл в миллионах	Состояние культуры	Подвижность	% подвижных клеток	Средняя скорость движения			Во сколько раз скорость движения пузырьков больше скорости движения бактерий
					бактерий в м/сек	бактерий в см/сек	пузырьков газа в см/сек	
3—6	120	Палочки различной длины, нити	Слабая	20	25	0,0025	1	400
6—10	282	Короткие и длинные палочки, нити	Хорошая	70	50	0,0050	2	400
12	582	Палочки средней длины	Средняя	50	20	0,0020	3	1500
24		Палочки средней длины, часть палочек согнута под углом	Слабая	20	10	0,0010	5	5000

Это значит, что естественная конвекция играет немаловажную роль в ацетоно-бутиловом брожении, обеспечивая бесперебойное поступление к клеткам свежих питательных веществ.

При понижении температуры количество выделяющихся газообразных продуктов реакции уменьшается и скорость естественной конвекции падает. Это ведет к падению концентрации реагирующих веществ в околоклеточных зонах, а следовательно, к падению скорости брожения. Температура выше 40° также ведет к ослаблению естественной конвекции, так как жизнедеятельность клеток падает.

Все это говорит о том, что видимое ускорение ацетоно-бутилового брожения при повышении температуры от 30 до 37° нельзя отнести целиком за счет специфического действия тепла. Это ускорение следует отнести за счет двух факторов: температуры и повышения концентрации реагирующих компонентов. Такой двойной механизм температурного ускорения

следует считать одной из причин высоких температурных коэффициентов химических процессов, вызываемых микроорганизмами.

Обсуждение результатов

Температурный коэффициент микробиологических процессов изучался многими исследователями.

Имшенецкий [4] указывает, что температурный коэффициент большинства микробиологических процессов равен 2—3, т. е. равен температурному коэффициенту химических реакций. Эта зависимость выражается уравнением

$$v_{t+10} = v_t \cdot Q_{10},$$

где v_t — скорость реакции при температуре t и v_{t+10} — скорость реакции при температуре $t + 10$, Q_{10} — температурный коэффициент реакции.

Исследование температурного коэффициента скорости спиртового брожения, проведенное различными авторами, показало, что температурный коэффициент заметно падает при повышении температуры [7, 9, 10]. То же самое мы наблюдали при изучении температурного коэффициента скорости ацетоно-бутилового брожения.

Этот коэффициент значительно падал при повышении температуры. При посеве малого количества бактерий падение температурного коэффициента скорости ацетоно-бутилового брожения в большей мере можно было объяснить значительным накоплением клеток при повышении температуры до 37°.

Действительно, при посеве большого количества бактерий, т. е. в острых кратковременных опытах, в которых размножение клеток практически было исключено, температурный коэффициент при повышении температуры падал в значительно меньшей степени, чем в тех опытах, где по ходу брожения имело место размножение бактерий.

Однако и в этих опытах падение температурного коэффициента при повышении температуры было ярко выражено. В этих острых опытах падение температурного коэффициента мы склонны были объяснить усилением естественной конвекции при повышении температуры. Естественная конвекция возникает в среде помимо воли экспериментатора. Поэтому избежать ее влияния на ход брожения очень трудно. Однако учесть ее влияние мы должны, так как усиленная диффузия, вызванная естественной конвекцией, сама по себе является важным фактором, ускоряющим брожение.

Таким образом, все видимое ускорение ацетоно-бутилового брожения при повышении температуры до оптимальной нельзя целиком отнести за счет активации частиц. Большая часть этого ускорения определяется не специфическим действием тепла, а увеличением концентрации реагирующих компонентов в сфере реакции.

Накопление большого числа клеток и усиление естественной конвекции при повышении температуры являются важными факторами, обуславливающими высокие температурные коэффициенты ацетоно-бутилового брожения при обычных условиях сбраживания.

Выводы

1. Температурный коэффициент ацетоно-бутилового брожения Q_7 равен 2—4 и более, доходя в ряде случаев до 10.
2. Наиболее высоким температурный коэффициент является в первые периоды брожения, когда клеток в среде мало и скорость естественного перемешивания невелика.
3. При повышении температуры от 23 до 37° наблюдается падение температурного коэффициента.

4. При увеличении количества посевной культуры температурный коэффициент падает.

5. Ввиду более быстрого размножения клеток при повышенной температуре и более быстрой естественной конвекции, способствующей повышению концентрации реагирующих веществ в зонах реакции, видимое ускорение химических процессов, вызываемых микроорганизмами, при повышении температуры следует отнести не только за счет активации частиц, но и за счет повышения концентрации участвующих в реакции компонентов.

Всесоюзный научно-исследовательский институт спиртовой промышленности
Москва

Получено 13.III.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бехтерева М. Н. и Иерусалимский Н. Д. Определение ацетона, нормального бутанола и этилового спирта при совместном присутствии. Журн. прикл. химии, **10**, 1314, 1937.
2. Дементьева М. И. Анализ углеводородных газов. Гостоптехиздат, М.— Л., 1953.
3. Иерусалимский Н. Д. Азотное и витаминное питание микробов. Изд-во АН СССР, М., 1949.
4. Имшенецкий А. А. Микробиологические процессы при высоких температурах. Изд-во АН СССР, М.— Л., 1944.
5. Комарова Л. И. Влияние твердых частиц, перемешивания и температуры на спиртовое брожение. Микробиология, XX, 140, 1951.
6. Комарова Л. И. Роль естественного перемешивания в спиртовом брожении. Микробиология, XXI, 579, 1952.
7. Костычев С. и Медведев Ю. Die Temperaturkonstante und der Temperaturkoeffizient der Gärung des Presssaftes und des Macerationssaftes. Z. physiol. Chem., **197**, 213, 1931.
8. Мантейфель А. Я. и Антышева В. Я. Влияние температуры на ход ацетонобутилового брожения. Микробиология, VI, 903, 1937.
9. Медведев Ю. О температурном коэффициенте скорости спиртового брожения. Биохимия, **2**, 614, 1937.
10. Slator A. Studies in fermentation. I. The chemical dynamics of alcoholic fermentation by yeasts. J. Chem. Soc., **89**, 136, 1906.

К ИЗЫСКАНИЮ АНТИОКИСЛИТЕЛЕЙ БИОЛОГИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ДЛЯ ПРЕДОХРАНЕНИЯ ЖИРОВ ОТ ПРОГОРКАНИЯ

Е. С. Татаренко, А. Е. Соболь и З. Н. Новикова

Проблема борьбы с прогорканием жиров имеет большое народнохозяйственное значение. Поскольку прогоркание жиров происходит в первую очередь вследствие их окисления, то в качестве средства против прогоркания предлагается вводить в жиры антиокислители. В настоящее время известно большое число антиокислителей. В большинстве случаев эффективно действующие антиокислители являются производными ароматического ряда, отличаются токсичностью и поэтому непригодны для защиты от окисления пищевых жиров. В связи с этим представляло интерес выяснить возможность получения антиокислителей биологического происхождения.

Предполагалось, что по аналогии с маслом гречихи, в неомыляемой части которого находятся вещества, обладающие антиокислительным действием на жиры, в неомыляемой части липоидов плесневых грибов также могут содержаться антиокислители.

Поскольку неомыляемые вещества являются частью липоидов, первым этапом наших исследований было изыскание плесневых грибов, обладающих большой способностью к жиронакоплению. Получение жира из микроскопических грибов давно обсуждается в литературе и осуществлено во многих лабораториях. По данным различных авторов, в мицелии плесневых грибов содержится от 1 до 64% жира. Даже у одного и того же штамма количество жира варьирует в зависимости от условий культивирования.

Согласно имеющимся литературным данным, выращиванием жиронакопляющих грибов исследователи занимались с целью получения пищевых препаратов [1, 2, 3, 4, 5, 6, 8]. Использованные для жиронакопления грибы принадлежали к различным видам, родам и семействам. Единой методики для выращивания жиронакопляющих грибов нет, так как различные виды грибов требуют различных условий культивирования. Однако, по данным многих исследователей, общим для всех грибов является потребность в аэрации и фосфоре для более интенсивного жиронакопления [2, 3, 4, 5, 7, 8].

Целью настоящей работы было: 1) найти плесневые грибы, способные накоплять жир в своем мицелии; 2) изучить оптимальные условия для жиронакопления и образования неомыляемых веществ; 3) испытать антиокислительные свойства неомыляемых веществ.

Для наших исследований был отобран плесневой гриб Naumoviella oleaginosa Tatarenko sp. nov. Этот гриб хорошо растет на сладком пивном сусле и в мицелии накопляет большое количество жира. При культивировании на сусло-агаре воздушный мицелий развивается медленно; войлочная масса мицелия заполняет всю пробирку над питательной средой. На поверхности жидких сред на сладком пивном сусле и картофельно-глюкозной среде при температуре 25—26° гриб образует сплошную пленку в течение 5—6 суток. Наличие жира в гифах гриба проверялось окрашиванием суданом III.

Из пленки N. oleaginosa, выращенной на сладком пивном сусле при

температуре 25° в течение четырех суток, было получено 27,9% жира, содержащего 18,9% неомыляемых веществ.

С целью повышения скорости жиронакопления испытывались различные синтетические и естественные питательные среды. Лучшие результаты были получены при выращивании N. oleaginosa на сладком сусле и картофельно-глюкозной среде (20% картофеля + 1% глюкозы).

Оптимальной температурой для роста N. oleaginosa является 25—26°. Температура ниже оптимальной 22—18° замедляет рост культуры, но не влияет на жиронакопление.

На процесс жиронакопления оказывает влияние pH питательной среды. Больший процент жира нами получен при выращивании N. oleaginosa на картофельно-глюкозной среде с pH = 4,8 и 5,0.

Нами были поставлены опыты по методу Селибера и Катанской, которые исследовали влияние затрудненного доступа воздуха на образование жира микроорганизмами [6].

В наших опытах плесневой гриб N. oleaginosa выращивался на питательной среде из сладкого пивного сусла 5° по Балг. pH = 6,0, в течение шести, восьми и девяти суток. В тех случаях, когда опыт продолжался шесть суток, пленки погружались в питательную среду на пятые сутки роста и в погруженном состоянии оставались 24 часа. В тех случаях, когда опыт продолжался восемь или девять суток, пленки в погруженном состоянии находились 48 часов. Закономерных изменений в накоплении липоидов и неомыляемых веществ в липоидах при проведении этих опытов нами не наблюдалось.

Добавление к сладкому пивному суслу и картофельно-глюкозной среде фосфорнокислого калия в количестве от 0,2 до 1,0% повышало способность N. oleaginosa к жиронакоплению.

При добавлении к питательной среде фосфорнокислого калия в количестве 3% замедлялся рост гриба и снижалось накопление жира (табл. 1).

Наиболее благоприятным оказалось разведение сусла до плотности 5—6° по Балг.

Таблица 1

Влияние фосфорнокислого калия на жиронакопление N. oleaginosa

Состав питательной среды		Сухой вес пленки в г	% липоидов на сухой вес пленки	% неомыляемых веществ к липоидам	Экономический коэффициент в %	Жировой коэффициент в %
Картофельно-глюкозная среда	+ 0,5% KH_2PO_4	5,5	47,3	—	39,0	18,0
	+ 1% KH_2PO_4	5,5	49,4	—	39,0	19,0
	+ 1% KH_2PO_4	7,4	52,0	—	17,0	9,0
	Контроль	5,5	45,2	—	39,0	17,6
	+ 0,5% KH_2PO_4	6,4	44,9	—	—	—
	+ 1% KH_2PO_4	6,0	52,4	—	—	—
	Контроль	6,13	46,0	—	—	—
	+ 1% KH_2PO_4	9,9	50,2	—	44,0	21,0
	Контроль	9,5	45,2	—	45,0	18,0
Сладкое сусло 5°	+ 1% KH_2PO_4	17,2	43,8	1,07	60,0	28,0
	Контроль	16,5	36,5	1,7	55,0	20,0
	+ 1% KH_2PO_4	15,6	20,0	3,2	37,0	9,5
	Контроль	15,6	23,1	8,5	37,0	11,0
	+ 1% KH_2PO_4	12,9	41,4	8,8	58,0	16,0
	Контроль	14,9	38,3	3,0	71,0	25,0
	+ 3% KH_2PO_4	16,7	28,1	2,3	39,0	11,0
	Контроль	22,4	33,2	2,4	52,0	16,0

Исследуемый гриб выращивался на жидкой питательной среде, которая наливалась в колбы с таким расчетом, чтобы слой среды был не менее 1,5 см. Во всех наших опытах пленка гриба была очень тонкой, без складок, в культуральной жидкости оставалось большое количество неиспользованных сахаров. При первоначальном разведении сусла до 5° по Балг. в культуральной жидкости сохранялась плотность 3,5—4°. Попытки использовать культуральную жидкость для повторных выращиваний гриба не удались, так как в некоторых случаях рост гриба был очень скудный, чаще такового вовсе не было.

В среднем грибом потреблялось сахаров только 36%. Повидимому, более полному усвоению питательных веществ препятствовали продукты метаболизма гриба, выделяемые в культуральную жидкость. Пленка гриба и культуральная жидкость обладают резким, неприятным запахом. Усвоение сахаров питательной среды в разных опытах происходило неодинаково, что отразилось на показателях экономического и жирового коэффициентов. Однако вес пленки гриба на сладком сусле значительно превышал вес пленки, выращенной на картофельно-глюкозной среде.

Большое влияние на образование пленки оказывает форма сосуда. В этом мы убедились, когда были вынуждены использовать для своих опытов сосуды разной формы.

На картофельно-глюкозной среде нами постоянно наблюдалось высокое накопление липоидов: в пределах от 45 до 52% на сухой вес пленки гриба.

На пивном сусле в одних и тех же условиях выращивания накапливалось разное количество липоидов — от 20 до 52%.

В накоплении неомыляемых веществ также не наблюдалось закономерности. Расхождения в количестве их, при выращивании в одних и тех же условиях, были очень значительные, например в одном опыте было получено 1,0% неомыляемых веществ, в другом — 16,2%.

Выяснить причину таких резких расхождений в накоплении липоидов на сладком сусле и неомыляемых веществ на разных средах нам не удалось. Возраст гриба N. oleaginosa в данных опытах значения не имеет. Для посевов применялись культуры 25—100-дневные.

При глубинном выращивании с продуванием воздуха все опыты дали отрицательные результаты.

Главными препятствиями в наших исследованиях были слабое спороношение культуры Naumoviella oleaginosa и образование тонкой пленки на поверхности питательной среды. Слабое спороношение затрудняет производство массовых посевов. Тонкая пленка не дает возможности получать большие количества жира.

Кроме N. oleaginosa, мы пробовали использовать Naumoviella humicola и Mortierella sp. 2, полученные из Всесоюзного института защиты растений.

Mortierella sp. 2 и N. humicola представляют большой интерес для дальнейшего изучения их способности к жиронакоплению. Как видно из табл. 2, сухой вес пленки N. humicola превышает таковой у других грибов. Антиокислительные свойства липоидов N. humicola и Mortierella sp. 2 не изучались.

Липоиды извлекались эфиром в аппарате Сокслета экстракцией из высушенных и растертых с пемзой пленок гриба. В каждом образце липоидов N. oleaginosa определялось также количество неомыляемых веществ. Выделенные из липоидов неомыляемые вещества N. oleaginosa были добавлены к пищевому саломасу и сливочному маслу в количестве 0,01—0,005%.

После облучения кварцевой лампой определялась их антиокислительная способность.

Условия опытов были следующие: неомыляемые вещества были растворены в небольшом количестве свежего топленого масла и добавлены

Таблица 2

Способность грибов к жиронакоплению на сладком пивном сусле (5° Балг., pH = 6,0)

Грибы	Сухой вес пленки в г	% липоидов на сухой вес пленки	Эконом. коэффициент в %	Жировой коэффициент в %
Naumoviella oleaginosa	15,8	44,0	35,0	16,0
Mortierella sp. 2	20,6	30,5	36,0	10,0
Naumoviella humicola	30,2	30,6	50,0	16,0

к сметане при сбивке масла. Из той же сметаны было сбито для контроля масло без консерванта. Затем полученное масло в бюксах для ускорения прогоркания облучалось кварцевой лампой. Каждые 30 минут брался очередной бюкс для химического анализа и органолептического определения прогорклости. При химическом анализе определялось наличие в масле перекисей, альдегидов и кетонов. Перекиси являются продуктами одной из первых стадий окисления жира, кетоны и альдегиды — продуктами окончательной стадии процесса в отношении формирования прогорклого запаха и вкуса.

Полученные результаты сведены в табл. 3.

Таблица 3

Влияние неомыляемых веществ липоидов гриба N. oleaginosa на задержку образования перекисей, альдегидов, кетонов и появление прогорклого вкуса

Время облучения в часах	Масло сливочное											
	Контроль				Добавлено 0,005 % неомыляемых веществ липоидов гриба N. oleaginosa				Добавлено 0,01 % неомыляемых веществ липоидов гриба N. oleaginosa			
	перекиси	альдегиды	кетоны	вкус	перекиси	альдегиды	кетоны	вкус	перекиси	альдегиды	кетоны	вкус
0,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1,5	0,0067	Следы	Следы	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2,0	0,0135	Есть	„	Начало прогорк.	—	—	—	—	—	—	—	—
2,5	0,0202	„	Есть	Прогорк.	0,0067	—	—	—	0,0067	—	—	—
3,0	0,0202	—	—	—	0,0135	—	—	—	0,0067	—	—	—
3,5	—	—	—	—	0,0135	—	—	—	0,0067	—	—	—
4,0	—	—	—	—	0,0135	Следы	—	—	0,0135	—	—	—
4,5	—	—	—	—	0,0135	„	Следы	—	0,0135	—	—	—
5,0	—	—	—	—	0,0135	Есть	Есть	Начало прогорк.	0,0135	—	—	—
5,5	—	—	—	—	0,0135	„	„	Прогорк.	0,0135	—	—	—
6,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Следы	—	Начало прогорк.
7,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	„	Следы	Прогорк.

Из табл. 3 видно, что неомыляемые вещества N. oleaginosa обладают высокими антиокислительными свойствами, задерживающими прогоркание сливочного масла в 2,5—3 раза по сравнению с контролем при концентрации 0,01—0,005%.

Нами было проведено также испытание антиокислительных свойств

неомыляемых веществ липоидов гриба Fusarium, полученного во Всесоюзном институте пивоваренной промышленности (табл. 4).

Таблица 4

Влияние неомыляемых веществ липоидов грибов N. oleaginosa и Fusarium на задержку образования перекисей, альдегидов, кетонов и появление прогоркло вкуса

Время облучения в часах	Саломас											
	Контроль				Добавлено 0,1% неомыляемых веществ липоидов Fusarium				Добавлено 0,01% неомыляемых веществ липоидов N. oleaginosa			
	перекиси	альдегиды	кетоны	вкус	перекиси	альдегиды	кетоны	вкус	перекиси	альдегиды	кетоны	вкус
0,5	0,0392	—	—	—	0,0280	—	—	—	—	—	—	—
1,0	0,0392	—	—	—	0,0280	—	—	—	—	—	—	—
1,5	0,0392	Следы	—	—	0,0600	—	—	—	—	—	—	—
2,0	0,0441	„	—	—	0,0690	—	—	—	—	—	—	—
2,5	0,0441	„	Следы	Начало прогорк.	0,0690	—	—	—	—	—	—	—
3,0	0,0490	Есть	„	Прогорк.	0,0780	Следы	—	—	0,0092	—	—	—
3,5	0,0540	„	„	„	0,0970	„	—	—	0,0092	—	—	—
4,0	0,0540	„	Есть	„	0,0970	Есть	—	—	0,0092	—	—	—
4,5	—	—	—	—	0,0970	„	Следы	—	0,0230	—	—	—
5,0	—	—	—	—	0,0970	„	„	—	0,0320	—	—	—
5,5	—	—	—	—	—	—	„	Начало прогорк.	0,0320	—	—	—
6,0	—	—	—	—	—	—	„	Прогорк.	0,0320	—	—	—
6,5	—	—	—	—	—	—	„	„	0,0320	Следы	Следы	Начало прогорк.
7,0	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0320	Есть	„	Прогорк.

Как видно из табл. 4, неомыляемые вещества, выделенные из липоидов гриба N. oleaginosa, оказались лучшим антиокислителем, чем неомыляемые липоидов гриба Fusarium.

Кроме того, было приготовлено из одних и тех же сливок сливочное масло с добавкой 0,01% неомыляемых веществ гриба N. oleaginosa и масло без добавки антиокислителя. Оба образца масла хранились вместе в холодильнике при температуре 1—2°.

Контрольное масло через 28 дней прогоркло, а масло с добавкой 0,01% неомыляемых веществ гриба N. oleaginosa начало прогоркать только через 86 дней. Таким образом, и химические испытания и лабораторные опыты длительного хранения масла показали, что при добавке 0,01% неомыляемых веществ гриба N. oleaginosa срок хранения масла удлиняется в три с лишним раза.

В составе неомыляемых веществ растительных масел, зародышей злаков и др. наряду с антиокислителями находятся также и стеролы, большинство которых не обладает антиокислительной способностью. С целью получения более активного антиокислителя (без неактивных стеролов), неомыляемые вещества гриба N. oleaginosa были обработаны петролейным эфиром. При этом нерастворимые в петролейном эфире стеролы были отфильтрованы. Их оказалось 3,3%. Очищенные от стеролов неомыляемые вещества представляли собой прозрачное мазеобразное вещество темнокоричневого цвета со своеобразным запахом. Поскольку количество стеролов оказалось очень мало, то, повидимому, присутствие их не отражается сколько-нибудь на антиокислительных свойствах неомыляемых веществ.

Иодное число неомыляемых веществ оказалось 140,9. Такое высокое иодное число указывает на большую ненасыщенность вещества и, следо-

вательно, на способность его в известных условиях окисляться. Этим свойством неомыляемых веществ может быть в значительной степени объяснено их антиокислительное действие, так как одним из условий, обеспечивающих хорошее качество антиокислителя, является легкость его окисления. С целью выяснения возможности использования жирных кислот, получаемых при выделении неомыляемых веществ из липоидов гриба N. oleaginosa, были исследованы жирные кислоты гриба. Они имели следующие показатели:

число нейтрализации	216,75,
иодное число	96,55,
родановое число	71,70.

На основе этих показателей вычислены молекулярный вес этих кислот и их условный состав. Они оказались:

молекулярный вес	258,7,
олеиновая кислота	52,16%,
линолевая кислота	27,28%,
насыщенные кислоты	20,56%.

Судя по составу жирных кислот, надо полагать, что они могут найти применение для технических целей (мыловарение и пр.).

Вопрос получения неомыляемых веществ из липоидов плесневых грибов для предохранения пищевых жиров от прогоркания заслуживает внимания с теоретической точки зрения, а при соответствующей разработке может иметь и большое практическое значение.

Выводы

1. Грибы Naumoviella oleaginosa, Naumoviella humicola и Mortierella sp. 2 обладают большой способностью к жиронакоплению.
2. Гриб N. oleaginosa при определенных условиях способен накоплять до 52% липоидов на сухой вес гриба.
3. Оптимальной температурой для развития N. oleaginosa является 25—26°. Гриб лучше развивается на средах с pH = 5 и 6.
4. На питательных средах с добавлением KH_2PO_4 в количестве 0,2—1,0% жира накопляется больше.
5. В неомыляемой части липоидов N. oleaginosa содержатся вещества, обладающие значительными антиокислительными свойствами и повышающие стойкость пищевых жиров при концентрации 0,01% в 3,5 раза.
6. Количество неомыляемых веществ гриба значительно колеблется и составляет от 1,0 до 18% к весу липоидов.
7. Необходимы дополнительные исследования для уточнения условий культивирования гриба.

Украинский научно-исследовательский институт пищевой промышленности
Харьков

Получено 20.II.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алеев В. С. и Бринберг С. Л. Накопление жира плесневыми грибами и возможность их промышленного использования. Сб. научн. трудов Ин-та нар. хоз-ва им. Плеханова, стр. 254—258, 1947.
2. Аристовская Т. В., Литвинова Е. В., Сташко С. П. Образование жира плесневыми грибами из группы Fusarium. Пищевая промышленность СССР, 3, 9, 1946.
3. Бычковская А. Л. Получение жира с помощью грибка Endomyces vernalis. Микробиология, VIII, вып. 9—10, 1940.
4. Конокотина А. Г., Савшинская Л. В., Шульц Г. Э. Жировые дрожжи и их практическое значение. Тр. Всес. ин-та с.-х. микробиологии, под ред. Г. Л. Селибера, V, 1933.
5. Селибер Г. Л. Получение жиров при помощи микроорганизмов. Пищевая промышленность СССР, вып. 11, 1944.
6. Селибер Г. Л. и Катанская Г. А. Влияние затрудненного доступа воздуха на образование жира микроорганизмами. ДАН СССР, LXXVI, 1951.
7. Таусон Б. О. Превращение энергии микроорганизмами. X. О накоплении жира у A. flavus. Микробиология, VII, вып. 3, 1938.
8. Lundin D. H. Fat syntesis by microorganisms and its possible applications in industry. J. Inst. Breving, January-February, p. 17, 1950.

К ВОПРОСУ О ВЫЗЫВАНИИ ГИДРОКСИЛАМИНОМ ЖЕЛТУХИ У НАСЕКОМЫХ

С. М. Гершензон, Е. П. Якушкина и *Р. М. Пухович*

В ряде работ, опубликованных за последние годы, Ямафуджи (Yamafuji) и его сотрудники [9, 10] утверждают, что кормление гусениц тутового шелкопряда листом, смоченным раствором гидроксиламина или некоторых других простых соединений азота, вызывает у них возникновение вирусного заболевания — желтухи (литература у Ямафуджи [9]). По мнению этих авторов, под влиянием таких веществ в организме здоровых гусениц образуется вирусный белок, ранее там отсутствовавший, следствием чего и является развитие болезни. Опыты Ямафуджи проверялись Тарасевич [6] и Смитом и Ксерос (Smith a. Xeros, [8]), причем в обоих случаях были получены отрицательные результаты. Однако проверка эта не может считаться достаточной, так как Тарасевич вела опыт только в течение двух недель и не сообщает о дальнейшей судьбе гусениц, получавших гидроксиламин с кормом, а также о судьбе образовавшихся из них куколок, а Смит и Ксерос вообще не приводят никаких подробностей о методике и фактическом материале проведенного ими опыта, ограничиваясь только заявлением, что желтухи им вызвать не удалось.

Поскольку данные Ямафуджи представляют интерес как для понимания природы желтухи шелкопрядов, так и для некоторых более общих проблем вирусологии, казалось целесообразным проверить правильность его выводов на достаточно большом материале и с соблюдением тех условий, которые, по его мнению, способствуют возникновению желтухи под воздействием гидроксиламина. В качестве объекта мы остановились для такой проверки не на тутовом шелкопряде, с которым работал Ямафуджи и другие упомянутые выше авторы, а на дубовом шелкопряде, который более подвержен желтухе, чем тутовый, и на котором поэтому можно было рассчитывать получить четкие результаты.

Опыты проводились в двух местах — на экспериментальной базе Института зоологии Академии наук УССР близ Киева и на кафедре зоологии Киевского ветеринарного института. Исходным материалом для опытов на экспериментальной базе Института зоологии АН УССР служили коконы дубового шелкопряда, полученные от летне-осенней племенной выкормки 1952 г., проведенной в колхозе имени Маленкова, с. Копачи, Чернобыльского района Киевской области. В этом колхозе на протяжении всего периода разведения там дубового шелкопряда, в течение трех лет ни разу не было вспышек желтухи ни среди гусениц, ни среди куколок, и шелководная бригада получала от каждой выкормки высокие урожаи сортовых коконов. Опыты в Киевском ветеринарном институте проводились на другом материале — на гусеницах, полученных из грены, происходящей от племенной выкормки дубового шелкопряда, проведенной весной 1953 г. в колхозе им. Жданова, с. Парышев, того же Чернобыльского района. В этом колхозе на выкормках тоже никогда не наблюдалось эпизоотий желтух и ежегодно получались хорошие урожаи коконов.

Опыты на экспериментальной базе Института зоологии АН УССР проводились Гершензоном и Якушкиной, а в Киевском ветеринарном институте — Пухович.

Поскольку опыты на экспериментальной базе Института зоологии АН УССР и в Киевском ветеринарном институте несколько различались по применявшейся методике, описания их даются отдельно.

Опыты, проведенные на экспериментальной базе Института зоологии Академии наук УССР

В качестве материала для опыта были использованы гусеницы первого-второго дня третьего возраста. Грена была продезинфицирована погружением на 10 минут в 0,5%-ный раствор каустической соды и 10%-ный раствор формалина и затем пятикратно промыта стерильной водой. Инкубация грены проводилась при температуре 18—20° и 75%-ной относительной влажности в помещении, тщательно продезинфицированном каустической содой и формалином. Выкормка гусениц с первого по третий возраст велась непосредственно на кустах дуба на участке, где до этого никогда не выкармливался дубовый шелкопряд. Таким образом, были приняты все возможные меры, чтобы избежать случайного заражения гусениц желтухой до начала опыта. Ни одной больной гусеницы до начала опыта обнаружено не было, а неоднократное микроскопирование гусениц первого и второго возрастов на присутствие полиэдров неизменно давало отрицательный результат.

После линьки на третий возраст было отобрано 380 гусениц, перелинявших в этот день или накануне, и гусеницы эти были разбиты на четыре группы — подопытную и две контрольные, по 60 гусениц в каждой, и третью контрольную группу, состоявшую из 200 гусениц.

Согласно Ямафуджи, гидроксиламин особенно легко вызывает желтуху у гусениц, предварительно прогретых при сублетальной температуре. Ввиду этого гусеницы подопытной группы были сразу же после выделения их из общей партии прогреты на водяной бане при температуре 45° в течение 10 минут. При таком прогревании гусениц дубового шелкопряда они впадают в тепловое оцепенение, часть из них погибает, но большинство оправляется. Отход в результате прогревания составил в нашем опыте 20% (12 гусениц).

После прогревания гусеницы были рассажены по две в простерилизованные кристаллизаторы диаметром 10 см, закрытые сверху стерильными марлевыми салфетками, придерживаемыми резиновыми кольцами. Все дальнейшее развитие гусениц происходило в этих кристаллизаторах. Кристаллизаторы с гусеницами содержались в продезинфицированном помещении при температуре, колебавшейся от 20 до 26°, и при относительной влажности 70—76%.

Подопытные гусеницы ежедневно получали свежие дубовые листья, предварительно продезинфицированные погружением на одну-две минуты в 1%-ный раствор каустической соды и затем промытые чистой водой. Раз в два дня листья, задаваемые гусеницам, погружались после дезинфекции и промывки водой в 1/8-молярный раствор химически-чистого солянокислого гидроксиламина. Таким образом, подопытные гусеницы питались через день нормальными листьями, а через день — листьями, смоченными раствором гидроксиламина. Листья всегда давались в избыточном количестве. Перед ежедневной дачей корма из кристаллизаторов удалялись экскременты и остатки несъеденных листьев и, по мере надобности, сменялась фильтровальная бумага, служившая подстилкой. Пинцет, которым производились эти операции, дезинфицировался после очистки каждого кристаллизатора.

Как уже было указано, одновременно с подопытной группой и из той же партии гусениц были выделены три контрольные группы. Две контрольные группы содержались там же, как подопытная (в кристаллизаторах, в том же помещении, при соблюдении таких же мер против внесения инфекции и т. д.). В одной из этих контрольных групп гусеницы были вначале прогреты в течение 10 минут при 45° (так, как это было сделано

с гусеницами подопытной серии). Во второй контрольной группе гусеницы не прогревались. В обеих этих контрольных группах гусеницы получали ежедневно дубовые листья в таком же количестве и продезинфицированные таким же образом, как и в подопытной группе, но не смоченные раствором гидроксиламина.

Гусеницы третьей контрольной группы воспитывались не в помещении, а непосредственно в природе, на кустах дуба, затянутых рыболовной сетью (для охраны гусениц от птиц) на том же участке, где проводилась выкормка всех гусениц в течение первых двух возрастов.

Все гусеницы, пронимфы и куколки, погибшие на протяжении работы, микроскопировались с целью выяснения причин их гибели. Диагноз желтухи устанавливался по наличию полиэдров в гемолимфе и в растертых тканях погибших особей.

Результаты, полученные в подопытной и в трех контрольных группах, приведены в табл. 1.

Таблица 1

Результаты выкормки гусениц подопытной и контрольных групп на экспериментальной базе Института зоологии АН УССР

Группы гусениц	Всего гусениц	Погибло гусениц				Гибель гусениц от желтухи в %	Продолжительность в днях от начала III возраста до начала завивки коконов	Всего завито коконов	Погибло пронимф и куколок от желтухи	Гибель пронимф и куколок от желтухи в %	Общий процент отхода от желтухи
		от желтухи	от нагревания	от бактер. болезней	утеряно						
Опытная (прогревание и кормление гидроксиламином)	60	38	12	8	—	79,2	40	2	2	100	83,3
Контрольная без прогревания	60	4	—	7	3	6,6	25	46	7	15,2	18,3
Контрольная с прогреванием	60	5	16	9	—	14,4	24	30	3	10,3	18,2
Контрольная на кустах	200	6	—	2	89	3,0	29	103	9	8,7	6,0

Как видно из табл. 1, в подопытной группе, получавшей гидроксиламин, погибло от желтухи свыше 80% особей, переживших прогревание. Во всех контрольных группах желтуха тоже имела место, но в гораздо более слабой степени, чем в подопытной группе. Сравнение контрольных групп друг с другом показывает, что прогревание гусениц, не сопровождаемое кормлением гидроксиламином, не увеличивает заболеваемости желтухой. Контрольные гусеницы, воспитывавшиеся в помещении в кристаллизаторах, болели желтухой чаще, чем воспитывавшиеся на кустах дуба в естественных условиях.

Подопытные гусеницы, получавшие листья, смоченные гидроксиламином, поедали их довольно неохотно, вследствие чего подвергались частичному голоданию. Кроме того, гидроксиламин, очевидно, оказывал на них и непосредственно токсическое действие, так как даже в те дни, когда они получали обычный корм (без гидроксиламина), они ели его менее активно, чем контрольные гусеницы, и вообще проявляли значительную вялость. В силу этих причин подопытные гусеницы росли гораздо хуже, чем контрольные, и сильно отставали от них в развитии. Период от начала третьего возраста до начала завивки продолжался у подопытных гусениц почти вдвое дольше (с 24 мая по 4 июля), чем у контрольных (с 24 мая по 17—18 июня).

Желтуха стала появляться у подопытных гусениц с 12-го дня после начала опыта, вскоре после того, как они перелиняли на четвертый возраст. В четвертом возрасте здесь погибло от желтухи 24 гусеницы, а в пятом возрасте — 14 гусениц. В контрольных группах желтуха появилась значительно позже, только в конце пятого возраста, перед завивкой коконов.

Микроскопическое исследование гемолимфы и тканей погибших от желтухи гусениц не обнаружило никаких различий между гусеницами, погибшими в подопытной и в контрольных группах,— во всех случаях характер изменений клеточных ядер, форма, размеры и локализация полиэдров были типичными для желтухи дубового шелкопряда.

Опыты, проведенные в Киевском ветеринарном институте

Материалом для опытов послужили гусеницы дубового шелкопряда второго-третьего возраста. До начала опыта гусеницы эти выкармливались на кустах, на опытном участке экспериментальной базы Института зоологии АН УССР. Грена, из которой были получены эти гусеницы, была продезинфицирована так же, как и в описанных выше опытах, проведенных на этой базе. Подопытные гусеницы в количестве 116 были прогреты

Таблица 2

Результаты выкормки гусениц подопытной и контрольных групп в Киевском ветеринарном институте

Группы гусениц	Всего гусениц	Погибло гусениц				Гибель гусениц от желтухи в %	Продолжительность в днях от начала III возраста до начала завивки коконов	Всего завито коконов	Погибло пронимф и куколок от желтухи	Гибель пронимф и куколок от желтухи в %	Общий процент отхода от желтухи
		от желтухи	от нагревания	от бактериальн. и грибн. болезней	утеряно						
Опытная (прогревание и кормление гидроксиламином)	116	39	12	49	5	33,7	45	11	4	36,3	43,3
Контрольная без прогревания	69	1	—	6	5	1,6	27	57	—	—	1,6
Контрольная с прогреванием	67	—	—	12	—	0	25	55	—	—	0
Контрольная на букетах	48	—	—	—	11	0	30	37	—	—	0

на водяной бане в течение 10 минут при 45° и затем воспитывались в помещении в кристаллизаторах точно так же, как в опытах, проведенных на экспериментальной базе Института зоологии АН УССР. Единственное отличие состояло в том, что гусеницы получали корм не раз в сутки, а два раза в сутки, причем утром им ежедневно давались продезинфицированные дубовые листья, смоченные 1/8-молярным раствором гидроксиламина, а под вечер такие же листья, но смоченные чистой водой.

Контроль состоял из трех групп гусениц, взятых из той же партии и воспитывавшихся в том же помещении. Первая контрольная группа, в которую входило 67 гусениц, отличалась от подопытной только тем, что гусеницы получали оба раза в день листья, смоченные чистой водой. Вторая контрольная группа, состоявшая из 69 гусениц, отличалась от первой контрольной группы тем, что гусеницы не подвергались прогреванию на водяной бане. Наконец, третья контрольная группа, в которой гусеницы тоже не прогревались, состояла из 47 гусениц, воспитывавших-

ся не в кристаллизаторах, а на букетах из дубовых веток; букеты эти стояли в воде и ежедневно заменялись свежими.

Как видно из табл. 2, в подопытной группе наблюдались те же последствия кормления гидроксиламином, что и в описанных выше опытах, проведенных на экспериментальной базе Института зоологии АН УССР, а именно: сильное отставание гусениц в развитии по сравнению с контрольными группами и значительный отход гусениц и куколок от желтухи. Желтуха стала появляться у гусениц подопытной группы спустя девять дней после начала опыта, причем наибольший отход наблюдался в пятом возрасте. Диагноз желтухи во всех случаях был подтвержден микроскопированием.

В контрольных группах желтухи почти не было (одна погибшая от желтухи гусеница в одной из трех контрольных групп).

Обсуждение результатов

Приведенные данные не оставляют сомнения в том, что у дубового шелкопряда питание листьями, смоченными раствором гидроксиламина, действительно приводит к заболеванию большинства особей желтухой. В этом отношении наши опыты подтверждают выводы, сделанные Ямафуджи.

Однако, в отличие от этого автора, мы полагаем, что нет оснований приписывать гидроксиламину специфической роли в возникновении желтухи. Уже давно известно, что желтуха тутового шелкопряда, а также полиэдренные болезни других чешуекрылых (монашенки, непарника и др.) могут появляться в потомстве совершенно здоровых родителей и в условиях, исключающих занос инфекции извне, если эти насекомые подвергаются неблагоприятным воздействиям окружающей среды. Для дубового шелкопряда это показано Швецовой [7] и нами [1], причем установлено, что желтуха может возникать без внесения инфекции извне в тех случаях, когда организм шелкопряда ослаблен ненормальными условиями развития в яйце, голоданием гусениц, питанием их качественно неполноценным кормом и т. д. Таким образом, и без гидроксиламина, но при помощи совсем иных воздействий, нарушающих нормальное течение физиологических процессов в организме насекомого, можно получить картину, совершенно сходную с той, какая имеет место при кормлении гусениц гидроксиламином. Это находит подтверждение и в результатах опытов, описанных в настоящей статье. На экспериментальной базе Института зоологии АН УССР желтухой болели не только подопытные группы гусениц дубового шелкопряда, получавшие гидроксиламин с кормом, но и те две контрольные группы, гусеницы которых развивались в ненормальных условиях содержания (в кристаллизаторах). Между тем контрольные группы гусениц, происходившие из тех же партий, что и подопытные, но находившиеся в нормальных экологических условиях, не болели или почти не болели желтухой в обоих местах, где проводилась работа.

Таким образом, Ямафуджи очевидно неправ, приписывая гидроксиламину специфическую способность вызывать желтуху. Против этого предположения говорит и тот факт, что, по его же собственным данным (Ямафуджи и Акита, Yamafuji a. Akita [10]), инъекции гидроксиламина не вызывают желтухи у куколок тутового шелкопряда, несмотря на то, что куколки, как известно, весьма подвержены этому заболеванию.

Что касается вопроса о механизме возникновения желтухи при кормлении гусениц гидроксиламином, то здесь возможны два объяснения.

Во-первых, можно, вслед за Ямафуджи, предположить, что под действием гидроксиламина (или других неблагоприятных факторов, ослабляющих гусениц) происходит изменение нормального обмена веществ в организме, вследствие чего в нем образуются частицы патогенного вирусного белка, обладающие способностью к размножению и паразитическому

существованию. Вокруг гипотезы об эндогенном возникновении вирусов буржуазные биологи создали некоторые идеалистические концепции, но сама по себе мысль о возможности возникновения вирусного белка из нормальных белков организма не содержит ничего идеалистического и, как показал ряд советских ученых (Муромцев [2, 3], Сухов [5]), должна приниматься во внимание при решении вопросов, подобных вопросу о природе полиэдренной болезни. Во-вторых, можно думать, что среди внешне здоровых гусениц широко распространено вирусоносительство, причем вирус желтухи, находящийся у них в латентном состоянии, в случае ослабления организма переходит в активное состояние и вызывает заболевание. Такой точки зрения держался и крупнейший специалист по болезням насекомых В. П. Поспелов [4], который писал: «Ряд указаний на спонтанное возникновение желтухи дает основание предполагать, что в организме гусениц шелкопряда находится вирус желтухи в скрытом состоянии. Таким образом, вирус, имеющий у здоровой гусеницы физиологическое действие при желтухе является патогенным».

На основании экспериментальных данных мы пока не можем окончательно решить, какое из этих двух объяснений следует принять, но теоретические соображения заставляют склониться в пользу второго. Если оно правильно, то для наших опытов приходится допустить, что в двух различных партиях дубового шелкопряда почти все особи являлись вирусоносителями, так как почти все подопытные гусеницы, находившиеся в условиях, исключающих заражение извне, но получавшие с кормом гидроксиламин, заболели желтухой.

С практической стороны, опыты, описанные в настоящей статье, еще раз показывают, что для предотвращения желтухи у дубового шелкопряда, наряду с соблюдением санитарно-профилактических мер, направленных против заноса и распространения инфекции, необходимо применять высокую агротехнику воспитания гусениц, создавать наиболее благоприятные условия для их развития.

Выводы

1. Кормление гусениц дубового шелкопряда листьями, смоченными раствором гидроксиламина, вызывает у них заболевание желтухой.

2. Действие гидроксиламина, повидимому, не является специфическим, а сводится к ослаблению организма, подобно тому, как действуют и разные другие факторы (ненормальные условия развития яиц, голодание гусениц, питание их качественно неполноценным кормом и т. д.), вызывающие у дубового шелкопряда заболевание желтухой.

Институт зоологии
Академии наук УССР
Киев

Получено 31.V.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гершензон С. М. Про причини епізоотій жовтяниці дубового шовкопряда. Сб. «Евкологія дубового шевкопряда», стр. 90, 1954.
2. Муромцев С. Н. Фильтрующиеся формы микробов и ультравирусы. Журн. общ. биологии, XII, 161, 1951.
3. Муромцев С. Н. Изменчивость микроорганизмов и проблемы иммунитета, 1953.
4. Поспелов В. П. Желтуха тутового и дубового шелкопряда. Сб. Комиссии шелководства ВАСХНИЛ, стр. 5, 1947.
5. Сухов К. С. Проблемы современной вирусологии. Сб. «Философские проблемы современной биологии», стр. 335, 1951.
6. Тарасевич Л. М. Желтуха и обмен веществ у тутового шелкопряда. Доклады ВАСХНИЛ, № 4, 35, 1953.
7. Швецова О. И. Роль кормового режима в заболевании дубового шелкопряда желтухой. Сб. «Дубовый шелкопряд», стр. 124, 1951.
8. Smith K. M. a. Xeros N. Studies on the cross-transmission of polyhedral viruses. Parasitology, 43, 178, 1953.
9. Mamafuji K. Mechanism of virus formation in silkworm tissues. Enzymologia, 15, 223, 1952.
10. Yamafuji K. a. Akita T. Virus formation in silkworm pupae. Enzymologia, 15, 14, 1952.

ДИСКУССИЯ

НЕКОТОРЫЕ СПОРНЫЕ ВОПРОСЫ О РОЛИ ПОЧВЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В ПИТАНИИ РАСТЕНИЙ

Л. И. Рубенчик

Проблема участия микроорганизмов в питании высших растений относится к наиболее важным проблемам почвенной микробиологии. Правильный подход к этой проблеме может сыграть определенную роль в деле разрешения задач, поставленных последними пленумами ЦК КПСС перед сельскохозяйственной наукой. Однако при оценке деятельности почвенных микроорганизмов были выдвинуты положения, которые должны подвергнуться критическому пересмотру.

Как известно, в истории развития физиологии растений взгляды на характер питания зеленых растений подвергались существенным изменениям. В XVIII в. господствовала гумусовая теория, согласно которой основную роль в питании растений играют органические вещества почвы. Один из наиболее видных представителей этой теории — Тэер считал, что растения строят свои ткани исключительно из органических соединений, получаемых ими из почвы. В XIX в. на смену гумусовой теории пришла минеральная теория питания растений, сначала в виде порочных во многих отношениях взглядов Либиха, а затем в виде экспериментально обоснованного положения об автотрофности хлорофильных растительных организмов. Правда, в этот период появлялись отдельные высказывания, имевшие характер предположений (Рэссель, 1936) или опиравшиеся на опыты (Петров, 1913; Шулов, 1913), о способности зеленых растений усваивать некоторые органические вещества. Однако эти работы не могли поколебать общепринятого взгляда, согласно которому хлорофильные растения питаются, в основном, минеральными веществами.

В. Р. Вильямс и другие стали развивать учение о симбиотрофном питании растений, считая, что питание растений осуществляется на основе симбиотических взаимоотношений высших растений с почвенными микроорганизмами (грибами, бактериями, водорослями). Это направление привело к широко известному положению Лысенко (1946): «Растения нормально питаются не просто минеральными солями, которые мы даем в виде удобрений. Они питаются продуктами жизнедеятельности микрофлоры».

На этом высказывании, оказавшем большое влияние на направление многих работ в области почвенной микробиологии за последние годы, необходимо особенно остановиться. Как оно возникло? Нам кажется, что основанием для него послужили следующие рассуждения. Известно, что некоторые почвы содержат огромное количество микроорганизмов. Доказано также, что большинство из них сосредоточено на сравнительно небольшом пространстве — в ризосфере растений. Отсюда Красильников (1936, 1940, 1951) пришел к мысли, что корни растений окружены как бы живым барьером, состоящим из несметного количества микроорганизмов. Если существует такой барьер, то, можно думать, растения фактически питаются только теми веществами, которые проходят через этот барьер в переработанном в результате жизнедеятельности микроорганизмов виде. Отсюда один шаг до вышеуказанного утверждения Лысенко.

Нужно признать, что вторая часть данного утверждения («Они питаются продуктами жизнедеятельности микрофлоры») не отличается ясностью. Продукты жизнедеятельности микроорганизмов относятся как к минеральным, так и к органическим веществам. Что касается первых, то они (аммиак, нитраты, фосфаты и др.) ничем не отличаются от таких же соединений, но вносимых в почву в виде удобрений. Было бы совершенно не логично утверждать, что растения не усваивают минеральных соединений, вносимых в почву, но используют эти же соединения, если на последних имеется печать «сделано микробами». Поэтому надо думать, что в вышеуказанном положении имеются в виду не минеральные, а органические соединения, образуемые микроорганизмами. Если такое толкование правильно, то положение Лысенко надо понимать в том смысле, что растения нормально питаются не просто минеральными удобрениями, а органическими веществами микробного происхождения. Так же трактует это положение и Петербургский (1954)

За последние годы повысился интерес к вопросу об усвоении зелеными растениями органических соединений. К таким работам принадлежат, например, исследования Христевой (1951). Пользуясь препаратом «гумкофос», содержащим различные фракции гуминовых кислот, она обнаружила положительное влияние этого препарата на урожайность ряда растений и на активность в последних некоторых ферментных систем. Однако проведенные опыты не дают права утверждать, что растения усваивали гуминовые кислоты. Наряду с этими кислотами «гумкофос» содержал различные другие органические и минеральные соединения. Кроме того, гуминовые кислоты могли предварительно разлагаться микроорганизмами, так как опыты проводились в нестерильных условиях. Тот же методический недостаток имел место и в других исследованиях (Кононова и Панкова, 1950), в которых выяснялось влияние гуминовых кислот на растения.

Красильников (1952, 1954) установил, что различные антибиотики (пенициллин, стрептомицин, ауреомицин и др.) быстро и в значительном количестве поступают в растения и распределяются более или менее равномерно по тканям. Это доказывает возможность проникновения в растения органических веществ различной природы. Очень возможно, что антибиотики окажутся фактором, имеющим значение в обмене веществ или в дополнительном питании растений, но пока об этом нет данных.

Большое внимание обратили на себя опыты Доросинского и Лазарева (1949). Авторы выращивали овес на простерилизованном среднеподзолистом суглинке. В условиях стерильной культуры растение проявляло ненормальное развитие, и получался незначительный урожай. Даже внесение полного набора минеральных удобрений не улучшало развитие овса. Когда же в почву были внесены микроорганизмы, особенно определенные их группировки, растение развивалось нормально. На этом основании авторы пришли к выводу, что в отсутствие микроорганизмов не может происходить усвоение растениями минеральных удобрений, вносимых в почву. Так как в опытах со стерильной культурой овса отсутствовал биологический барьер, то можно было думать, что растение не использует минеральных соединений не потому, что последние «перехватываются» микроорганизмами, а потому, что оно вообще не способно усваивать такие соединения.

Однако в следующей работе Доросинского (1951) указывается, что при наличии в почве определенной экологической группировки микроорганизмов минеральные вещества поступают в распоряжение растений. Наконец, в более поздней совместной работе вышеуказанных авторов (Лазарев и Доросинский, 1953) овес в водных культурах развивался и усваивал минеральные вещества без участия микроорганизмов. Остается непонятным, почему в жидкой среде растение способно усваивать минеральные соединения, а в почве оно теряет эту способность. Неясно также,

в чем заключалась функция микроорганизмов, когда они вносились в простерилизованную почву, содержавшую минеральные удобрения. Может быть, они образовывали какие-то стимуляторы роста или разрушали токсические вещества, образовавшиеся при стерилизации почвы (в одном из опытов токсические продукты стерилизации удалялись путем промывки почвы водой, но удавалось ли полностью их удалить?). Ясно только одно: разбираемые работы недостаточны для обоснования положения, что зеленые растения в почве усваивают не минеральные удобрения, а продукты жизнедеятельности микроорганизмов.

При решении вопроса о роли микроорганизмов в питании растений существенное значение имеет применение новых методов исследований (радиоактивные изотопы, хроматографический анализ и др.). В опытах Шавловского (1953, 1954) в стерильных условиях сеянцы гречихи, кукурузы и гороха поглощали тиамин и метионин, меченные радиоактивным изотопом серы S^{35}. При заражении прорастающих семян гречихи культурами микроорганизмов, предварительно поглотивших меченый тиамин, была обнаружена частичная передача этого витамина проросткам растения. Некоторые бактерии (Pseudomonas aurantiaca), выращиваемые на среде с радиосульфатом натрия, использовали радиоактивную серу для построения своих белков, а затем выделяли в среду как органические, так и минеральные соединения серы. Из бактериальных автолизатов проростки гречихи усваивали серусодержащие аминокислоты (метионин и цистин).

Интересные данные были получены Ратнером и Колосовым (1954). Подвергая бумажно-хроматографическому изучению пасоку кукурузы, культивированной в стерильных условиях, эти исследователи обнаружили четко выраженную синтетическую функцию корневой системы растения: внесенные в среду минеральные соединения азота превращались в аминокислоты (лизин, гистидин, аргинин, серин и др.). Микроорганизмы или продукты их жизнедеятельности оказывали влияние на ход превращения азота в корнях. При использовании ризосферных бактерий кукурузы усиливались некоторые звенья аминокислотного обмена в корнях и ускорялось превращение минерального азота в органические соединения.

Эти данные, работы по внекорневому питанию растений, а также прежние исследования процесса питания растений в стерильных условиях не оставляют сомнения в том, что зеленые растения являются автотрофными организмами, в питании которых непосредственное участие микроорганизмов не обязательно.

Вместе с тем можно считать доказанным, что их автотрофность не носит облигатный характер. Наряду с минеральными веществами растения могут усваивать и некоторые органические соединения. Заслуживает внимания мысль Красильникова (1952), что степень усвоения растениями минеральных или органических веществ зависит от физических, химических и биологических факторов почвы. Нам кажутся односторонними утверждения, что питание растений относится к чисто минеральному (Турчин, 1954) или органоминеральному (Кононова, 1954) типу. По-видимому, оно охватывает и тот и другой тип, но не сводится к какому-нибудь из них.

Что касается роли микроорганизмов в питании растений, то бесспорным, по нашему мнению, является их участие в снабжении растений минеральными и некоторыми органическими (в том числе физиологически активными) веществами.

В противовес наблюдавшейся за последние годы переоценке значения почвенной микрофлоры в деле питания растений в настоящее время начинает намечаться противоположная тенденция. Вряд ли можно согласиться с Турчиным (1954) в том, что некоторые органические соединения азота и фосфора (аминокислоты, фитин) встречаются в почве настолько редко, что они не могут играть сколько-нибудь существенной роли в об-

щем потреблении питательных веществ растениями. Если указанные и некоторые другие органические вещества встречаются в почве в незначительном количестве, то это происходит, вероятно, потому, что будучи образованы микроорганизмами, они сейчас же частично используются растениями, а частично подвергаются дальнейшим превращениям в почве под влиянием ее микрофлоры.

Петербургский (1954) считает, что если бы пища попадала к растениям лишь в предварительно переработанном микроорганизмами виде, то она должна была бы быть «обезличенной». В действительности же это не происходит, и различные азотные удобрения оказывают неодинаковое влияние на обмен вещества в растительном организме, а также на количество и качество урожая. Отрицая, таким образом, существование в почве биологического барьера, Петербургский в то же время придает преувеличенно большое значение поглощению микроорганизмами растворимых минеральных веществ. По его мнению, микробиологическое поглощение надолго исключает возможность растений использовать минеральные соединения и нередко приводит к настоящему их голоданию. Вредная деятельность почвенных сапрофитных микроорганизмов, как считает Петербургский, настолько велика, что «мы должны всячески стремиться оградить растения от конкуренции со стороны микроорганизмов за обладание растворимыми солями» (Петербургский, 1954, стр. 76). Невольно возникает опасение за судьбу растений, которых одни исследователи обрекают на голодание в отсутствие, а другие — в присутствии микроорганизмов...

Приведем некоторые данные, полученные в нашем отделе Смалиём. В простерилизованной и обычной почве проращивались семена пшеницы. Когда проростки достигли пятидневного возраста, в обе почвы был внесен K_2HPO_4, содержащий изотоп фосфора P^{32}. В результате последний был обнаружен в проростках на простерилизованной почве через час, а на обычной почве — лишь через семь часов после внесения радиофосфата калия. Выходит, что в обычной почве в отношении фосфора существует нечто вроде биологического барьера, но последний не надолго задерживает поступление фосфора в проростки.

В другом опыте Azotobacter chroococcum, Bac. megatherium и Pseudomonas nonliquefaciens выращивались на средах, содержавших радиофосфат калия. Сначала наблюдалось поступление фосфора в клетки бактерий, но уже через двое (Bac. megatherium, Pseudomonas nonliquefaciens) — трое (Azotobacter) суток начиналось освобождение части поглощенного фосфора, причем последний поглощался проростками пшеницы. Повидимому, часть поглощаемого бактериями фосфора не закрепляется прочно в их клетках и находится там в свободном состоянии. Соответствующее указание имеется и в литературе (Стефенсон, 1951). Этот фосфор может легко освобождаться.

Представляет интерес следующий опыт. Проростки пшеницы выращивались на простерилизованной и обычной почве, куда вносился радиофосфат калия. Оказалось, что проростки на обычной почве содержали больше фосфора, чем на простерилизованной. Это можно объяснить химической ретроградацией фосфора в простерилизованной почве. В присутствии же микроорганизмов последние поглощали фосфор, а затем постепенно отдавали его растению. Поэтому в этих условиях суммарное количество фосфора, которое оказалось в распоряжении растений, было больше, чем в отсутствие микроорганизмов. Приведенные данные говорят о том, с какой осторожностью надо судить о пользе или вреде почвенных микроорганизмов.

Для дальнейшего успешного развития почвенной микробиологии следует отбросить умозрительные положения (если они выдаются не за рабочую гипотезу, а за истину) и накоплять факты для обоснованных обобщений.

ЛИТЕРАТУРА

Вильямс В. Р. Почвоведение. Сельхозгиз, 1947.

Доросинский Л. М. Корневое питание растений и микроорганизмы. Агробиология, № 2, 1951.

Доросинский Л. М. и Лазарев Н. М. Роль микроорганизмов в корневом питании растений. Агробиология, № 4, 1949.

Кононова М. М. Выступление на совещании почвоведов, состоявшемся в Москве 20—26 апреля 1954 г. Почвоведение, № 6, 1954.

Кононова М. М. и Панкова Н. А. Воздействие гумусовых веществ на рост и развитие растений. ДАН СССР, LXXIII, № 5, 1950.

Красильников Н. А. Очаговое распространение микроорганизмов в почве. Изв. АН СССР, Отд. матем. и естеств. наук, стр. 192, 1936.

Красильников Н. А. О влиянии микроорганизмов на рост растений. Микробиология, IX, вып. 4, 1940.

Красильников Н. А. Усвоение корнями растений продуктов жизнедеятельности микробов. ДАН СССР, LXXIX, № 5, 1951.

Красильников Н. А. Роль микроорганизмов в дополнительном питании растений. Усп. совр. биологии, XXXIII, № 3, 1952.

Красильников Н. А. Микроорганизмы в плодородие почвы. Изв. АН СССР, сер. биол., № 2, 1954.

Лазарев Н. М. и Доросинский Л. М. О роли микроорганизмов в питании растений в условиях водных культур. Тр. Всес. н.-иссл. ин-та с.-х. микробиологии, XIII, стр. 67, 1953.

Лысенко Т. Д. Сельскохозяйственная наука в борьбе за выполнение Сталинской программы. Газ. «Известия», 6 марта 1946.

Петербургский А. В. Некоторые вопросы корневого питания растений (по работам лаборатории Д. Н. Прянишникова). Почвоведение, № 8, 1954.

Петров Г. Г. Об усвоении растениями в стерильных условиях азота тирозина, лейцина и пептона. Изв. Моск. с.-х. ин-та, кн. 4, 1913.

Ратнер Е. И. и Колосов И. И. Корневое питание растений и новые методы его исследования. Природа, № 10, 1954.

Рэссель Э. Д. Почвенные условия и рост растений (перевод с англ.), 1936.

Стефенсон М. Метаболизм бактерий (перевод с англ.), 1951.

Турчин Ф. В. Питание растений и применение удобрений. Почвоведение, № 6, 1954.

Христева Л. А. Роль гуминовой кислоты в питании растений. Тр. Почв. ин-та им. В. В. Докучаева, XXXVIII, стр. 108, 1951.

Шавловский Г. М. Участие микроорганизмов в снабжении растений органическими соединениями серы. ДАН СССР, XCI, № 5, 1953.

Шавловский Г. М. Участие микроорганизмов ризосферы в витаминном и аминокислотном питании растений. Автореф. дисс., 1954.

Шулов И. С. Исследование в области физиологии питания высших растений при помощи методов изолированного питания и стерильных культур, 1913.

ОБЗОРЫ

МЕМБРАННЫЕ ФИЛЬТРЫ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ ПРИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ ВОДЫ

А. С. Разумов

Введение

Мембранные фильтры (м. ф.) практически безупречно решают задачу выделения взвесей из разного рода жидких сред.

Хотя, как будет показано далее, м. ф. впервые были изготовлены за границей (в Германии), широкое использование их в микробиологии, и в первую очередь при исследованиях воды, было начато у нас, в СССР.

В задачу настоящего краткого обзора входит: 1) дать уточненную характеристику м. ф., 2) рассмотреть различные направления их применения в гидробиологии вообще и микробиологии воды в частности, 3) изложить современное состояние применения м. ф. в данной области в зарубежных странах и, наконец, 4) наметить пути дальнейших работ с. м. ф. на основе личного опыта и тем самым способствовать усилению интереса к ним, к сожалению, несколько ослабевшего у нас в Союзе в последнее время, хотя возможности, предоставляемые ими исследователям, далеко не исчерпаны.

Мембранные фильтры

Фильтры, называемые в Германии и СССР мембранными, а в настоящее время в США — молекулярными, изопористыми или миллипористыми, изготовляются из нитроклетчатки. Возможно изготовление м. ф. и из других эфиров целлюлозы, например ацетилцеллюлозы.

Довольно подробные сведения о составе и свойствах м. ф. можно найти в монографиях Яндера и Заковского (1937) и Товарницкого и Глухарева (1951). Первыми, изготовившими м. ф. и начавшими их изучение, были Зигмонди и Бахман (Zsigmondy u. Bachmann, 1918).

В настоящее время имеется ряд типов м. ф. Наиболее распространенными являются фильтры, изготовляемые на основе спирто-эфирных (коллодиума) и ацетоновых растворов нитроклетчатки. При разработке методики прямого микроскопического учета бактерий в воде (Разумов, 1932) выявилась необходимость изготовления м. ф. собственными силами.

Первые фильтры у нас были изготовлены в 1929 г. в институте ВОДГЕО при участии проф. Г. И. Долгова по простейшим прописям Бахмана (Bachmann).

По этим прописям фильтры готовятся из коллодиума или раствора кино- или фотопленки, освобожденной от слоя эмульсии, в ацетоне. Эти растворы после отстоя и тщательного фильтрования выливаются на стекло, установленное строго горизонтально. По испарении жидких компонентов смеси полученный фильтр разрезается на диски требуемых размеров. Изменяя относительное количество ацетона в первом случае и этилового спирта во втором, можно получать м. ф. различной плотности. Наличие в кино- и фотопленках наполнителей и пластификаторов побудило заменить их коллоксилином определенных марок, что позволило получать фильтры более стандартного качества.

Первая оригинальная пропись изготовления м. ф. у нас была предложена Дианової и Ворошиловой (1932). В этом случае растворителями нитроклетчатки являются ацетон и уксусно-этиловый эфир, а коагулятором — изоамиловый спирт. По мере испарения растворителей относительное содержание коагулятора в вылитой на стекло массе возрастает, что и определяет микро- и макроскопическую структуру фильтра.

Производство фильтров в небольших размерах довольно легко осуществимо в лабораторных условиях, но получение их стандартного качества оказывается затруднительным, так как требуется строгое выполнение ряда условий, в частности: стандартности нитроклетчатки (коллоксилина) по степени нитрации и вязкости ее растворов, растворителей и коагуляторов, температуры, влажности воздуха помещения, где изготовляются м. ф., режима испарения разлитых на стекло готовых смесей и др.

Вследствие этого предпочтительно пользоваться фильтрами фабричного производства. Первая фабрика м. ф. была создана в Германии в Геттингене на основе работ Зигмонди; существует до сего времени.

У нас производство м. ф. в масштабе, удовлетворявшем потребности лабораторий московского водопровода, было начато в 1932—1933 гг. Впоследствии было осуществлено производство м. ф., удовлетворяющее потребности всего СССР, на экспериментальной фабрике ультрафильтров Министерства коммунального хозяйства РСФСР (гор. Мытищи).

В США фабрики м. ф. начали создаваться с 1951—1952 гг.

Структура фильтров довольно сложна. Можно различить: 1) почти идеально ровную и гладкую сторону, обращенную при изготовлении «к стеклу», и 2) волнистую, обращенную «к воздуху». Фильтрация обычно бывает более медленная, если производится со стороны менее гладкой поверхности («к воздуху»), чем наоборот, когда ведется со стороны поверхности «к стеклу». Предполагается, что ширина пор увеличивается в сторону стеклянной стороны (см. Яндер и Заковский, 1937, стр. 88).

Некоторые типы м. ф. имеют обнаруживаемую при рассматривании с поверхности «к воздуху» или на просвет более или менее четко выраженную систему полигональных ячеек (сетчатую структуру). При этом грани ячеек оказываются более тонкопористыми, нежели их центральные части.

Взвеси, выделяемые из воды на таких м. ф., распределяются неравномерно, пятнами. Появление этого рода структуры зависит от состава исходной смеси, в частности при введении в нее этилового спирта. Она совершенно отсутствует у фильтров, изготовляемых по способу Дианової и Ворошиловой (1932).

Сторона м. ф., обращенная «к стеклу», обычно глянцевая, эмалевидная (у рыхлых фильтров бархатистая), иногда имеет глянец непрочный, легко стирающийся, или же имеет тонкий порошкообразный налет. Для обеспечения равномерности распределения взвесей (бактерий) на фильтре рекомендуется налет удалять, например кусочком ваты (о подготовке м. ф. для бактериологических анализов см. Драчев, Разумов и др., 1953, стр. 267). Представления о тонкой, микроскопической структуре м. ф. до недавнего времени были весьма схематичными и в значительной мере гипотетическими (система канальцев с округлым или щелевидным сечением). Хельмке (Helmcke, 1953) провел электронно-оптическое исследование немецких м. ф., применяя напыление металлом, что позволило наблюдать детали строения поверхности и пропитывание углеводородами с последующим их испарением, растворением в обоих случаях тела фильтра ацетоном и стереоскопическим исследованием остатка — «отпечатка» системы пор.

Были изучены пять типов м. ф., имеющих водопроницаемость, определяемую скоростью фильтрования 100 мл через площадь в 100 $см^2$ от >100 до 1 секунды. Полости самых плотных фильтров состоят из мельчайших пузырьков, распределяющихся в теле м. ф. и относительно

друг друга почти равномерно. С увеличением водопроницаемости м. ф. количество и размеры полостей возрастают; тело м. ф. представляет собой обильно разветвленную систему канальцев. Выходы канальцев на поверхности делают их неровными, скульптурными. У легко проницаемых фильтров появляются более крупные полости, а основная масса фильтра распределяется среди них наподобие островков. Поверхность их еще более неровная.

По расчетам, приводимым Гётцем (Goetz u. Tsuneishi, 1951), объем пор бактериологических (молекулярных) м. ф. составляет 75—80% и лишь 15—20% м. ф. является веществом тела фильтров. На фильтрующей площади м. ф. при $d = 50$ мм располагается около 500 млн. пор.

Фильтры, изготовляемые у нас, представляют собой диски, имеющие $d = 35$ мм, толщину — 0,1 мм и вес около 20—30 мг. Пористость м. ф. характеризуется: водопроницаемостью, определяемой по скорости прохождения через фильтрующую площадь ($d = 30$ мм) влажного м. ф. 500 мл. дистиллированной воды, и воздухопроницаемостью сухого м. ф., выраженной в атмосферах. Характеристика м. ф. приведена в таблице.

Характеристика мембранных фильтров. (По данным фабрики Мин-ва коммун. хоз-ва РСФСР

Фабричный номер	Водопроницаемость (средняя)	Воздухопроницаемость (атм.)	Средний размер пор (μ)
1	9 мин.	2 —2,5	0,3
2	4,5 „	1,8—2,0	0,5
3	2,15 „	1,5—1,8	0,7
4	65 сек.	1,2—1,5	0,9
5	30 „	0,5—1,2	1,2
"Предварительные"	12 „	—	2—5

Для прямого счета бактерий м. ф. имеют $d = 18$ мм.

Изготовляемые в Германии фильтры имеют толщину 0,1 мм, общий диаметр — 42 мм, средний диаметр пор у разных сортов м. ф.—0,7—2,0 μ (Kruse, 1949). Водопроницаемость их была приведена ранее (Helmcke, 1953).

В США, по Бушу (Bush, 1953), «молекулярные» м. ф. готовятся двух типов: АА — «аэрозольные», для выделения взвесей из газовой среды, и НА—«гидрозольные», для выделения взвесей и бактерий из жидких сред. Фильтры НА выпускаются в виде дисков ($d = 47$ мм, рабочая площадь 9,6 см², толщина 0,15 мм). По Гётцу (1951), фильтры имеют $d = 50$ мм. Скорость фильтрования: 100 мл дистиллированной воды при комнатной температуре и давлении 1 атм проходят в 5 секунд и в случае более плотных м. ф.— в 15 секунд.

Наиболее важным критерием качества м. ф. является характеристика размера пор. Для целей санитарно-бактериологических анализов воды довольствуются м. ф. со средним размером пор 0,7 μ. Эта величина получается из данных по скорости фильтрации дистиллированной воды на основе закона Пуазелля (см. Яндер и Заковский, 1937, стр. 93).

Как явствует из приведенного ранее описания структуры м. ф., размеры отдельных пор могут иногда значительно уклоняться как в сторону уменьшения, так и увеличения, а потому для бактериологов важно иметь данные о максимальном размере пор.

Этот показатель получается измерением давления, необходимого для пропускания воздуха через влажный фильтр (см. Яндер и Заковский, там же, стр. 121).

Пригодными для прямого счета бактерий являются такие м. ф., на поверхности которых получается равномерное пятно при пропускании разбавленной в дистиллированной воде и не оседающей в течение суток суспензии туши, при отсутствии окраски обратной стороны фильтра и прозрачном фильтрате.

М. ф. выдерживают длительное хранение, не изменяя существенно своих свойств как в сухом состоянии, так и в воде. Их можно стерилизо-

вать текучим паром и в автоклаве. Величина пор при этом несколько уменьшается.

Фильтры должны быть эластичными, например выдерживать складывание вдвое не растрескиваясь.

Новые фильтры перед употреблением кипятят в воде — для удаления из них воздуха и экстрагируемых веществ. При этом они не должны скручиваться и менять иные свои свойства. По наблюдениям Тейлора (Toylor и др., 1953), испытанные им американские фильтры, в отличие от немецких, после кипячения в воде и стерилизации скручиваются, вследствие чего плохо удерживаются на агаровых и других средах, несколько съеживаются и становятся хрупкими. Поэтому их рекомендуется стерилизовать этиленоксидом (взрывоопасно) или ультрафиолетовым облучением.

Наши м. ф. весьма эластичны; без нарушения целости их можно сминать и многократно сгибать, но в некоторых партиях наблюдается более или менее выраженное скручивание при кипячении. Фильтры, изготовляемые в США, имеют отпечатанную на них сетку, каждый квадратик которой соответствует 0,01 фильтрующей площади, что облегчает счет выросших колоний.

Фильтровальные аппараты

Для фильтрования через м. ф. имеется ряд аппаратов. Описание и изображения тех из них, которые применяются для ультрафильтрации, имеются в ряде специальных руководств (Яндер и Заковский, 1937; Товарницкий и Глухарев, 1951, и др.).

Для исследований воды применяются: аппарат Кольквитца, предложенный для выделения из воды планктона (Разумов, 1932, рис 1); аппараты Зейтца разных размеров, предложенные для фильтрования через асбесто-целлюлозные пластины (см. Дианова и Ворошилова, 1932, рис. 1); два аппарата системы Л. А. Олихова для исследования планктона (см. Разумов, 1933, рис. 1 и 2). Наиболее удобным и простым для микробиологических исследований воды является аппарат С. С. Семенова и близкий к нему — инж. Гольдмана. Нижняя часть его имеет площадку с круглым отверстием, закрытым пористой пластинкой из стеклянной крошки или выточенной из пемзы, кирпича или другого пористого материала ($d = 30$ мм), и заканчивается двойной трубкой: внешняя, облекающая трубка, снабженная краном, присоединяется к вакуум-насосу; внутренняя сообщается с пористой пластинкой и служит для отвода фильтрата. При этом в пробке, закрывающей сосуд-приемник фильтрата, требуется лишь одно отверстие. Верхняя часть снабжена металлической или стеклянной воронкой емкостью до 1 л. Нижняя часть имеет два клиновидных выступа, верхняя — соответственной конфигурации желобки, чем и обеспечивается герметичное их соединение. Многие лаборатории наших водопроводов оборудованы специальными столами с батареей фильтровальных аппаратов (6—10 шт.), с подводкой вакуума, газа и отводом фильтрата.

Судя по проспектам, аппараты этого типа являются общепринятыми в Германии.

В США наиболее распространенным является аппарат Гётца (Goetz, 1951, 1952), принципиально не отличающийся от аппарата С. С. Семенова. Верхняя часть его — цилиндрическая воронка из нержавеющего металла, нижняя часть имеет пластинку из «пористого угля» с фильтрующей площадью 9,6 см². Отводка для выкачивания воздуха нет; вследствие этого приемником фильтрата могут быть лишь колбы типа Бунзена. Наличие резиновой прокладки и применение пластмасс для изготовления некоторых деталей аппарата исключают его стерилизацию нагреванием. Стерилизация аппарата в разобранном виде производится парами формалина, образующегося при неполном сгорании метилового спирта в прилагаемой к аппарату камере.

Гётц (1953) предложил особый фильтровальный прибор — «концентрометр». Принципиальной особенностью его является то, что м. ф. расположен вертикально, а не горизонтально, как обычно. По мере фильтрования количество взвесей и бактерий от верхней части м. ф. книзу возрастает (взвеси оседают на м. ф. в виде клина). Такой способ фильтрования возможен, так как влажный фильтр при давлении не свыше 3 атмосфер непроницаем для воздуха.

М. ф. имеет форму прямоугольника (3 × 4 см), снабженного рамкой, на которой нанесены горизонтальные уровни, соответствующие принятым в США стандартным объемам анализируемой воды (от 0,1 до 100 мл). Это позволяет пользоваться таблицами расчетов коли-индекса (M. P. N.— «наиболее вероятное число кишечных палочек»). По окончании фильтрования м. ф. проращиваются, как обычно.

Простейшим фильтровальным аппаратом для прямого учета бактерий в воде (ее микробиального планктона) является «зажим № 1» Пельша (Пельш, 1935). Наиболее пригодна для этой цели модификации Г. П. Долгова (Разумов, 1953). Нижняя часть

аппарата имеет отверстие ($d = 10$ мм), закрытое пористой пластинкой вместо металлической сетки; трубка, отводящая фильтрат, двойная, как и в аппарате С. С. Семенова, что позволяет брать в качестве приемника фильтрата любую банку. Металлический стаканчик заменен стеклянным, что устраняет загрязнение окислами металла. Соединение обеих частей такое же, как и у зажима Пельша (гаечным винтом).

Сфера применения мембранных фильтров

Предложенные специалистами в области физической и коллоидной химии м. ф. в первую очередь здесь и нашли свое применение как фильтрующий материал, работающий по типу сита, при котором сорбционные явления, если и имеются, то выражены крайне слабо (см. Яндер и Заковский, 1937, стр. 33, 44—76).

В гидрохимии м. ф. применяются при количественных определениях взвешенных веществ (Драчев и др., 1953, стр. 75).

Для качественного и количественного изучения планктона и, в частности, наннопланктона м. ф. впервые были применены Кольквитцем (Kolkwitz, 1924). У нас организмы, выделяемые из воды м. ф., обозначаются как «мембранный» планктон. Для этой цели пользуются «предварительными» (планктонными) или м. ф. № 4 и 5 (см. таблицу) и фильтровальными аппаратами Олихова. Эти же «предварительные» м. ф. применяются при гельминтологических обследованиях водоемов (Василькова, 1941).

Далеко не исчерпаны широкие возможности применения м. ф. при различных микробиологических исследованиях, в особенности в тех случаях, когда малое количество микробов находится в сравнительно больших объемах жидких сред. Особо тонкопористые м. ф. находят применение в вирусологии (см. Товарницкий и Глухарев, 1951).

Далее, м. ф. позволяют получить фильтраты, лишенные бактерий, их фильтрующихся форм и вирусов. Возможно их применение и в более крупных масштабах для обеззараживания питьевой воды, в отдельных домах, больницах, аптеках, лабораторной практике и т. п. (см., например, Reichenbach, 1930).

В области общей и санитарной микробиологии м. ф. впервые были применены с большим успехом, как будет показано далее, у нас в СССР. Наконец, у нас же в СССР м. ф. были предложены для изучения микрофлоры воздуха (Милявская, 1947).

Микроскопическое исследование воды на мембранных фильтрах

Не подлежит никакому сомнению и можно считать твердо установленным, что микробиальное население морей, океанов и континентальных водоемов в сотни, тысячи, иногда более раз многочисленно, нежели о том дают представление методы, основанные на культивировании микробов (счетом колоний и определением титра на всевозможных средах). Отчетливо представляя недостатки методов культур при изучении микрофлоры воды, многие исследователи изыскивали приемы непосредственного, прямого ее изучения. Весьма существенным затруднением в данной области составляет изыскание наиболее простого и надежного способа концентрирования относительно малых количеств бактерий из сравнительно больших объемов проб воды.

Наиболее совершенным и простым методом является фильтрование намеченного объема воды до конца, подсушивание и фиксация осевших на его поверхности микробов, окраска полученного таким образом препарата карболовым эритрозином, отмывание краски из м. ф. дестиллированной водой, вторичное подсушивание, заключение в канадский бальзам и микроскопическое исследование.

Фильтры для изучения микрофлоры воды должны удовлетворять следующим требованиям: 1) иметь средний размер пор возможно мень-

ший (например, 0,3 μ), 2) обеспечивать наиболее равномерное распределение взвесей и микробов на их поверхности, 3) толщина их должна быть возможно меньшей (лучше несколько менее 0,1 мм), что ограничивает удерживание краски телом фильтра и увеличивает контрастность препаратов, и 4) в теле фильтров не должно содержаться посторонних частиц и, в частности, тел микробов, спор грибов и неорганизованных взвесей. Прочие требования, общие для всех м. ф., были указаны ранее.

Практически эти требования могут быть выполнены так.

Наиболее пригодны м. ф., изготовляемые по способу Дианової и Ворошиловой (1932), лишенные грубой сетчатой структуры и имеющие идеально гладкую, стекловидную поверхность «к стеклу». Из фабричных фильтров следует применять наиболее плотные (№ 1 и 2). По данным Гётца (1952), в м. ф., имеющих толщину 0,15 мм и среднюю величину пор 0,7 μ, бактерии проникают на глубину до 10 μ, т. е. не распределяются в одной плоскости, что затрудняет счетную работу.

В теле м. ф. не должно содержаться механических загрязнений и, в частности, клеток микробов и их спор. Этого рода включения особенно неблагоприятно могут сказаться при исследовании вод с бедной микрофлорой. В последнее время на этот возможный источник ошибок было обращено внимание Криссом (1953), а его сотрудниками Рукиной и Бирюзовой (1952) был разработан метод изготовления м. ф., лишенных этого порока.

Вопрос о загрязненности м. ф. и ее оценке подробно освещен на страницах этого журнала в упомянутых статьях Крисса, Рукиной и Бирюзовой, а также Кузнецова (1952) и Разумова (1952). Загрязненность использованного м. ф. легко можно оценить, исследуя при просмотре окрашенного препарата его кромки, не участвовавшей в фильтровании воды. При относительно малом содержании в воде микробов рекомендуется увеличивать объем фильтруемой воды. Существенно загрязненными партиями м. ф. без ущерба для дела пользоваться, конечно, нельзя.

Как при подсчетах на МПА не всякие комочки считаются за колонии бактерий, так и при данной работе не все частицы, воспринявшие окраску, принимаются за клетки микробов, т. е. эту работу должен выполнять достаточно опытный микроскопист, способный отличить микробов от случайных загрязнений.

Прямые методы учета микробов в грунтах и, в частности, в воде морей очень резкой, но совершенно необоснованной критике подвергает Калиненко (1953). Обнаружив в воде Охотского моря 6—8 колоний в посевах на МПА, а прямым счетом до 40 000 в 1 мл, он полагает, что данные, полученные первым методом, более достоверны, чем полученные вторым. У других исследователей (Крисс и Рукина, 1949) в воде морей в большом удалении от берегов местами не вырастало даже и одной колонии в посевах 1—2 мл. Принимая правильность подобных соотношений, логично сделать вывод, что микробы никакой роли в этих водоемах не играют по причине практически полного отсутствия.

В самом деле, если на одного микроба объемом в 1 μ^3 приходится 1 мл или 10^{12} μ^3 воды, то трудно ожидать, что при таком рассеянии микробы способны создать уловимые какими-либо методами количества продуктов их метаболизма или действенные концентрации антибиотиков и ферментов.

Большое расхождение результатов количественных подсчетов прямым методом и посевом на обычные среды обусловлено в первую очередь наличием в естественных водах многочисленной специфической микрофлоры, на этих средах не растущей. Прямым методом удалось как в пресных водоемах, так и морях найти своеобразные микроорганизмы, до того бывшие не известными, притом нередко в больших количествах (см. Разумов, 1953; Крисс, 1949, Штурм, 1950). Неосновательны и

догадки, что в составе микробиального планктона весьма много мертвых клеток.

Мы не знаем ни одного биоценоза, в котором всегда было бы по неизвестной причине большое количество трупов. Вода в водоемах не может быть уподоблена фиксатору, а потому мертвые клетки довольно скоро подвергаются распаду в результате автолиза, как это показано Лазаревой (1953). Имеются возможности непосредственно оценить количество мертвых клеток в воде — оно обычно находится в пределах 10—20% (Лазарева, 1953).

Наконец, возможно, вопреки утверждению Калиненко, подойти к установлению качественного состава этого биоценоза по морфологическим признакам микробов и микрохимическим реакциям (окраска по Граму, установление отложения в клетках железа, кальция, серы и т. п.), а также используя метод микрокультур на м. ф. и специальных средах (Разумов, 1953).

Эти препараты используются и для изучения абиосестона (при учете количества гидрата окиси железа в воде озер — Кузнецов, 1952, стр. 264) при исследовании минеральных взвесей в реках (Разумов, 1954, стр. 20).

В свое время метод прямого учета бактерий в воде на м. ф. почти не обратил на себя внимания зарубежных микробиологов. Едва ли не единственное исключение представляет работа Цеетти (Zeetti, 1935), подтверждающая основные выводы русских авторов. В последние 2—3 года были указания лишь на принципиальную возможность применения м. ф. в данном направлении (Taylor и др., 1953), и лишь Яннаш (Jannasch, 1953), исходя из русских работ, опубликовал свою модификацию прямого учета бактерий на м. ф. и результаты ее применения при изучении микробиального планктона Неаполитанского залива. Особенности этой модификации следующие: сушка м. ф. после пропускания через них воды производится в течение 20 минут при 70°, окрашивание препаратов производится 3—5 минут метиленовой синью [0,5 г краски, 10 мл спирта (96%) и 100 мл дестиллированной воды] до глубокой синей окраски и просветления м. ф. Средняя погрешность количественных подсчетов определена в пределах 4—5%. Применяя основного характера краситель, автор мирится с сильным прокрашиванием м. ф. и стремится увеличить контрастность препаратов смесями различных просветителей, например равных объемов масел гвоздичного и иммерзионного или парафинового и зугенола (Яннаш, 1954). Наконец, имеется краткое сообщение (Richards a. Krabec, 1954) о возможности рассматривания микроорганизмов на м. ф. при помощи фазового микроскопа.

Методы выращивания бактерий на мембранных фильтрах

Большим успехом с 1932 г. у нас, а в последнее время и за рубежом пользуются методы концентрирования микробов воды на м. ф. с последующим проращиванием их на различных диагностических средах.

Впервые эти методы были предложены и многосторонне изучены Барсовым (1932, 1938, 1937). Им было показано, что, пропустив намеченный объем воды через м. ф. и положив его в чашку Петри с МПА или средой Эндо, возможно при обычных режимах выращивания таких посевов произвести санитарно-бактериологическое исследование воды. При этом на м. ф., как показали его наблюдения за ряд лет, число колоний сапрофитной микрофлоры образуется такое же (или даже несколько большее, за счет исключения повреждения клеток при заливке питательной средой), как и при обычном проведении этого определения. Колииндексы получаются при определении их на м. ф. такие же, как при поверхностных посевах воды на среду Эндо или методом титра на стандартных жидких средах. Этот прием исследования воды и прочих жидких сред оказался обладающим рядом важных преимуществ и потому скоро обратил на себя внимание наших бактериологов, гигиенистов и деятелей в области санитарной техники. В частности:

1. Этот прием позволяет весьма существенно сократить потребность лабораторий в бактериологической посуде, в количестве и емкости термостатов, в питательных средах, материалах и реактивах, идущих на их изготовление.

2. Соответственно сокращается объем работы персонала, занятого выполнением анализов.

3. Сама схема санитарно-бактериологического анализа воды может быть упрощена, а срок его выполнения сокращен до 2 суток вместо 3—5 суток, которых требует стандартный метод с постановкой бродильных проб.

4. Что касается характеристики этого метода определения содержания в воде различных бактерий и, в частности, группы кишечной палочки, то он обладает следующими преимуществами:

а) фильтрование отделяет микробов от воды, и тем самым исключается возможное неблагоприятное действие бактериофагов, микробов-антагонистов, токсических веществ в сточных водах, хлора в питьевых и т. п.;

б) при малом содержании взвесей и бактерий на одном фильтре могут быть сконцентрированы большие объемы воды (до 1 л и более), что имеет большое значение при исследованиях артезианской и очищенной водопроводной воды;

в) исключаются ошибки, связанные с приготовлением разведений и при заливке плотными средами;

г) результат анализа выражается в виде числа колоний (например, коли-индекса), что значительно точнее определения титра;

д) в случаях анализов на содержание в воде кишечной палочки исключаются «ложные» бродильные титры, обусловленные размножением анаэробов;

е) в посевах на среде Эндо колонии кишечных палочек при 37—43° вырастают в течение 24—18 часов и могут быть использованы для микроскопирования микробов и выделения культур при их дальнейшем изучении;

ж) фильтры с выросшими на них колониями после высушивания и обеззараживания (например, формалином) могут быть сохранены как дополнение к протоколу анализов.

В 1939 г. приказом наркоматов здравоохранения и коммунального хозяйства РСФСР этот метод был введен как заменяющий метод титра и, наконец, в 1950 г. он стал основным методом в первом общесоюзном стандарте (ГОСТ—5216—50, Вода питьевая, Методы бактериологического анализа). Метод же бродильных проб остается лишь заменяющим.

Этот метод нашел широкое применение в различных областях прикладной микробиологии: при санитарных исследованиях воды (Алфимов, 1954; Позывай, 1933), напитков (Гринвальд и Каневская, 1945), минеральных вод (Лащилина, 1946), при обнаружении патогенных микробов в воде (Мац, 1941), молоке и молочных продуктах (Асколонов и Файбышенко, 1940), воздухе (Милявская, 1947) и пр. Большое количество работ, касающихся деталей этого метода и частных вопросов его применения, опубликовано в журналах «Гигиена и санитария», «Лабораторная практика», «Микробиология» и других изданиях в период с 1932 г.

Следует упомянуть о затруднительных случаях применения м. ф. при исследованиях воды.

При наличии большого количества взвесей и относительно малом содержании бактерий накопление взвесей идет быстрее, нежели бактерий.

Слой взвесей, изменяя условия образования колоний, может снижать элективные свойства применяемых сред. До некоторой степени это влияние взвесей может быть ограничено увеличением размера м. ф., что, конечно, связано с небольшим изменением конструкции фильтровального аппарата. Этот путь использован у нас и за границей. Гётц и др. (1951) в этом случае предлагают большие м. ф. с $d = 90$ мм.

Для той же цели у нас применяется фильтрование через 2 м. ф.

поверх плотного фильтра помещается более крупнопористый № 5 или «предварительный» м. ф. По окончании фильтрования оба м. ф. наносятся на плотную среду, число выросших колоний суммируется.

Потков (1951) предложил специальную модификацию аппарата для подобного двухступенного фильтрования. И этот прием не решает задачи в случаях обилия весьма тонких взвесей, что характерно для горных рек и многих рек Средней Азии (Разумов, 1954).

Особо большие помехи создает обилие в воде планктона. В этих случаях предлагается (Барсов, 1933) увеличивать элективность среды Эндо введением 0,1% фенола или же повышать концентрацию фуксина при неизменном содержании сульфита натрия (Разумов, 1947, 1953).

Для устранения выпадения из некоторых минеральных вод гидрата окиси железа рекомендуется стабилизировать закисное железо лимоннокислым натрием (Лащилина, 1946).

Как показал Скородумов (1933), колонии бактерий довольно резко обезвоживают плотную среду под ними.

Еще более резко это явление выражено в посевах на м. ф.: под крупными колониями можно наблюдать ясно выраженные ямки, что указывает на затрудненность в этом случае бокового подтока жидкости к колониям, и вообще размеры колоний на средах с обычным содержанием агара (1,5—2,0%) несколько уменьшаются.

Для ускорения роста колоний на м. ф. Барсовым (1937) было предложено снижать количество агара в средах до 0,75% и даже исключать полностью, производя выращивание посевов на матрасиках из фильтровальной бумаги, смоченных питательной средой. Ряд подобных поглотителей жидких сред (песок, измельченное стекло и др.) предложен был Дианową и Ворошиловой (1943).

* * *

М. ф. открыли новые и широкие возможности в области ускорения бактериологических анализов воды.

В этом направлении Барсовым было предложено (1937) наряду с уменьшением количества агара в питательных и диагностических средах увеличивать в них содержание пептона, вводить добавочные питательные и ростовые вещества в виде мясного экстракта, мясного лизата и автолизата дрожжей, повышать температуру выращивания до 41°. Этим путем удается сократить срок появления видимых невооруженным глазом колоний кишечной палочки с 24—18 часов до 12—10 часов. Страхова предложила в «ускоренные» среды вводить витамин B_1 (1948). Дальнейшее механическое сокращение срока выращивания приводит к микроскопическому наблюдению зачаточных микроколоний. В этом случае м. ф. проращиваются 5—8 часов, затем снимаются с питательной среды и обрабатываются как препараты для прямого счета бактерий (Разумов, 1933).

Этим путем Барсову (1937) удавалось обнаруживать кишечную палочку в воде р. Москвы через 3 часа выращивания. Возможность переносить колонии, выросшие на м. ф., на другие среды открывает широкие перспективы не только в области санитарно-бактериологических исследований, но и при изучении различных процессов, связанных с метаболизмом самых разнообразных бактерий. М. Ф. Лазаревой, по нашему предложению, было проведено совмещение определений числа сапрофитных бактерий и кишечной палочки в одном посеве: посев воды выращивается на МПА, производится подсчет колоний; затем м. ф. с колониями наносится на диагностическую среду. В случае среды Эндо примерно через 2 часа появляются красные колонии, т. е. имеется возможность выявить бактерии, способные разлагать лактозу с образованием кислот и альдегидов.

Диагностические среды обычно содержат разного рода ограничители роста сторонних бактерий (анилиновые и другие красители, фенол и т. п.), удлиняющие лаг-фазу размножения бактерий. Более быстрый переход к фазе логарифмического роста можно получить, выращивая бактерии 2—4 часа на «ускоренных» средах и проводя доращивание на средах элективных.

Исходя из работ Зандера (Sander, 1934) и Хёфлинга (Höffling, 1934—1935), было испытано введение в питательные среды комплексных цианидов меди, никеля, нитропруссида натрия и др.

Как показали наши опыты, проведенные при участии Мудрецовой-Висс и Орловой, имеется возможность в течение кратких сроков установить способность разлагать комплексные цианиды меди и никеля, перекладывая м. ф. с колониями, выросшими на МПА, на среды с соответствующими добавками. В последнем случае ионы никеля в колониях обнаруживались «проявлением» м. ф. реактивом Чугаева (диметилглиоксимом). На МПА с 0,5% нитропруссида натрия бактерии группы кишечной палочки образуют синие колонии. Этой способностью не обладают грамположительные и многие грамотрицательные бактерии.

На питательных средах с источником углерода в виде лимоннокислого железа и желтой кровяной солью вырастают синие колонии цитратассимилирующих бактерий. Лучше, однако, в среду вводить лишь цитрат железа, а фильтры с колониями снять со среды и «проявить», увлажнив раствором желтой кровяной соли (3%) и соляной кислотой (5%).

Очень быстро, далее, можно установить способность выросших на м. ф. бактерий восстанавливать нитраты в нитриты: фильтр с выросшими колониями переложить на агар с добавкой KNO_3, KJ и растворимого крахмала, выдержать в термостате при 37—41° 15—30 минут, сняв м. ф., залить среду соляной кислотой (5%). Иод, вытесненный нитритом из иодистого калия, дает синие пятна под соответствующими колониями. Фильтр с колониями бактерий можно последовательно перекладывать на короткие сроки на ряд сред и, применяя соответствующие макро- и микрохимические реакции, получить подробную характеристику биохимических свойств изучаемых бактерий. Диагностические среды для этих определений можно готовить ex temporе, исходя из «голодного» агара, МПА и т. п., добавляя стерильно требуемые ингредиенты. М. ф. с колониями на них можно хранить сутками сухими, например в чашках Петри. Активность бактерий в колониях при этом остается довольно высокой.

При соответствующей плотности м. ф. непроницаемы для бактерий. Опыты с культурами бактерий, находящихся в трубках, к одному концу которых коллодием приклеен м. ф., помещенные в колбочки с питательными средами, показывают отсутствие явления прорастания бактерий через эти фильтры. Прорастают через м. ф. некоторые плесневые грибы и актиномицеты, способные разрушать вещество фильтров. Это свойство м. ф. можно использовать при изучении прижизненных выделений микробов, фито-, зоопланктона и др. (Разумов, 1953).

Незаменимыми м. ф. являются при проведении полевых и экспедиционных исследований водоемов. Здесь особенно ценны возможности: 1) обойтись без жидких питательных сред, 2) сократить потребное оборудование и 3) просто решить трудный в этих условиях вопрос о термостате, не нашедший до сей поры удовлетворительного решения ни у нас, ни за рубежом. Барсовым (1932) было предложено в этих условиях заменять чашки Петри металлическими баночками (например, алюминиевыми), а посевы выращивать, помещая их в кармашки специального жилета, используя теплоту тела. Разработана портативная лаборатория-укладка, обеспечивающая проведение всей работы по исследованию воды на месте (отбор проб, их обработка, получение ответа и сбор материалов для уточнения результатов анализов в стационарной обстановке). Инструкции по проведению этих работ неоднократно были

опубликованы (Разумов, 1943, 1947, 1953). Пользуясь этой методикой, Кузнецовой и мной было проведено большое обследование водоисточников в особо тяжелых условиях, в районах, только что освобожденных от вражеской оккупации, во время минувшей войны. В США имеются портативные лаборатории-укладки с термосом для выращивания посевов на м. ф. (Goetz, 1953b). В настоящее время методика проращивания посевов на м. ф. интенсивно прорабатывается в Германии, куда она проникла из СССР во время Отечественной войны. Первое сообщение о ней здесь было опубликовано в 1943 г. с указанием работ русских, которым пришла мысль помещать м. ф. на питательные среды. Это обстоятельство Крузе (Kruse, 1949) называет «трагичным», имея, очевидно, в виду неиспользованную возможность преодоления чрезвычайных затруднений немецких бактериологов во время минувшей войны. Здесь ведется работа по ускорению санитарно-бактериологических анализов воды (Kruse, 1949) и их стандартизации, используя метод м. ф.

В США методы, основанные на применении м. ф., проникли из Германии, куда вскоре по окончании второй мировой войны была направлена специальная комиссия для ознакомления с достижениями этой страны, в частности и в данной области. Новые методы исследования воды и воздуха заинтересовали в США как военные (Chemical Corps of the U. S. Army), так и гражданские санитарные организации и комиссию по стандартизации методов исследования питьевых и сточных вод. В общем исследования в США ведутся в направлениях использования и усовершенствования приемов работы с м. ф., разработанных в СССР и изложенных выше. Проращивание м. ф. производится на прокладках (pad) из «инертного» материала (например, из толстой фильтровальной бумаги), увлажняемого жидкой питательной средой. В питательные среды, более концентрированные, чем обычные, вводится для сокращения лаг-фазы автолизат дрожжей и другие стимуляторы роста колоний. Для той же цели практикуется предварительное короткое (2—3 часа) проращивание м. ф. на полноценных средах, после чего он перекладывается на прокладку, пропитанную элективной или диагностической средой, для доращивания посевов. Имеются прокладки, заранее пропитанные соответствующими средами, высушенные и простерилизованные. Перед употреблением их увлажняют в стерильной чашке Петри 2 мл воды. Имеются прокладки и более сложные, состоящие из трех слоев: верхнего, пропитанного средой для ускоренного роста колоний, и нижнего — пропитанного элективной средой, которая может проникнуть через средний слой по миновании лаг-фазы (например, через 2 часа). Детали приемов работы с м. ф., разрабатываемых в США, можно найти в публикациях Гётца (Goetz, 1951, 1952, 1953a, b), Буша (Bush, 1953) и др.

В Англии работа с м. ф. ограничивается освоением методов, разработанных в США, и испытанием пригодности их применительно к принятой в этой стране практике санитарно-бактериологических исследований воды (Taylor и др., 1953).

Выводы

Предшествующее изложение и далеко не исчерпывающий перечень отечественных работ, посвященных различным вопросам применения м. ф., преимущественно в области микробиологических исследований воды, показывают, что у нас в Союзе проделана в данном направлении большая работа и что мы в этой области опередили зарубежные страны более чем на 20 лет. Это, в свою очередь, налагает на нас большую и ответственную задачу удерживать ведущее место. Если во многих зарубежных странах сейчас интенсивно ведется работа в направлении освоения и усовершенствования новых методов, то у нас они уже нашли широкое применение при изучении микрофлоры воды, воздуха, напитков, молока и т. п.

Известно, что ценность методов исследования определяется не только практическими соображениями (простота, скорость, малая стоимость, точность), но и теми научными достижениями, которые получены при их помощи.

В этом отношении два основных направления исследований при помощи м. ф. уже дали ощутительные результаты.

1. Изучение микробиального планктона показало наиболее вероятное количество микробов в водоемах, находящееся в соответствии с предполагаемой и истинной их ролью. В континентальных водоемах и морях найден ряд новых микроорганизмов, не растущих на обычных средах.

2. Путь выращивания микробов на м. ф. с перенесением их на различные среды позволяет полно изучить биохимические свойства микробов и их взаимоотношения, не выделяя в изолированные культуры, ускорить и упростить выполнение ряда практических заданий. Не использованы в достаточной мере возможности привлечения люминесцентного анализа, хроматографии, фазовой микроскопии и т. п.

Непременным условием прогресса в указанных направлениях является повышение качества продукции нашей Экспериментальной фабрики мембранных фильтров, стандартизация ее, увеличение ассортимента м. ф., предназначаемых для разных целей, изыскание новых подобных фильтрующих материалов, не обладающих некоторыми отрицательными свойствами м. ф. из нитроцеллюлозы. Надо надеяться, что и в этих направлениях мы достигнем значительных успехов.

ЛИТЕРАТУРА

Алфимов Н. Н. Сравнительная оценка методов определения количества бактерий в морской воде. Микробиология, XXIII, 693, 1954.

Асколонов С. и Файбышенко Ф. Ускоренный метод бактериологических исследований молока при помощи мембранных фильтров. Вопросы питания, 4, 48, 1940.

Барсов К. К. К методике учета кишечной палочки на мембранных фильтрах. Микробиология, I, 422, 1932.

Барсов К. К. Опыт ускоренного учета кишечной палочки в воде с помощью мембранных фильтров. Микробиология, VI, 912, 1937.

Барсов К. и Сочилова А. К методике учета B. coli с помощью мембранных фильтров. Микробиология, II, 292, 1933.

Василькова З. Г. Методы гельминтологических исследований воды и почвы. Санитария и гигиена, № 1, 37, 1941.

Временный стандарт качества водопроводной воды и инструкция по исследованиям воды. Изд. Наркомхоз. РСФСР, М., 1940.

Гринвальд С. и Каневская А. Применение ускоренного метода мембранных фильтров при бактериологическом исследовании напитков. Гиг. и санит., № 1-2, 38, 1945.

Дианова Е. и Ворошилова А. Ультрафильтры для бактериологических исследований. Микробиология, I, 271, 1932.

Дианова Е. и Ворошилова А. Жидкие и полужидкие среды с наполнителями (замена агара) для бактериологических работ. Гиг. и санит., № 2-3, 29, 1943.

Драчев С., Разумов А., Бруевич С. и Голубева М. Методы химического и бактериологического анализа воды. Медгиз, М., 1953.

Калиненко В. И. О методах подсчета бактерий. Почвоведение, вып. 5, 71, 1953.

Крисс А. Е. О пригодности для прямого счета мембранных ультрафильтров, выпускаемых для санитарно-бактериологического анализа воды. Микробиология, XXII, 69, 1953.

Крисс А. и Рукина Е. Распространение микроорганизмов в водной толще Черного моря. Микробиология, XVII, 141, 1949.

Кузнецов С. И. Замечания к статье «Метод получения мембранных ультрафильтров...» Е. Рукиной и В. Бирюзовой. Микробиология, XXI, 477, 1952.

Лазарева М. Ф. Прямой счет бактерий при решении задач технической микробиологии воды. Изд. ВНИИ, ВОДГЕО, 1953.

Лащилина З. В. Применение экспресс-метода с мембранными фильтрами при контроле за санитарным состоянием минеральных воды, Гиг. и санит., № 10, 34, 1946.

Мац Л. И. К методам выделения B. coli и патогенных микробов из воды при помощи мембранных фильтров. Гиг. и санит., № 11-12, 32, 1941.

Милявская П. Ф. Исследование микрофлоры воздуха. III. Сравнительная оценка методов исследования микрофлоры воздуха путем просасывания его через жидкость и мембранные фильтры. Тр. Центр. н.-иссл. дезинф. ин-та, III, 18, 1947.

Пельш А. Д. К методике количественного учета ультрананнопланктона. Тр. Бородинск. биол. ст., VIII, 31, 1935.

Позывай Т. Т. О бактериологическом исследовании воды в полевых условиях. Воен.-сан. дело, № 1, 1933.
Потков Л. А. Прибор для двойной мембранной ультрафильтрации. Микробиология, XX, 343, 1951.
Разумов А. С. Прямой метод учета бактерий в воде и сравнение его с методом Коха. Микробиология, I, 131, 1932.
Разумов А. С. Новые методы и пути качественного и количественного учета микрофлоры воды. Микробиология, II, 346, 1933.
Разумов А. С. Указания по полевому санитарно-бактериологическому анализу питьевой воды в условиях военного времени. Стройиздат, 1943.
Разумов А. С. Методы микробиологического исследования воды. Изд. Всес. н.-иссл. ин-та ВОДГЕО, 1947.
Разумов А. С. Замечания к статье «Метод получения мембранных ультрафильтров...» Е. Рукиной и В. Бирюзовой. Микробиология, XXI, 478, 1952.
Разумов А. С. Микробиальный планктон воды. Диссертация. Ин-т общ. и коммун. гигиены АМН СССР, 1953.
Разумов А. С. Микрофлора водоемов в Средней Азии. Сб. «Вопросы коммунальной гигиены в условиях жаркого климата Средней Азии». Ред. А. Сысин и М. Горомосов, Медгиз, 1954.
Рукина Е. и Бирюзова В. Метод получения мембранных ультрафильтров для прямого счета, свободных от микробных тел. Микробиология, XXI, 60, 1952.
Скородумов Л. Н. Культура и колония микроорганизмов. Тифлис, 1933.
Страхова В. А. Ускоренная диагностика кишечной палочки в воде. Сб. «Вопросы санитарной бактериологии», Изд-во АМН СССР, М., 1948.
Товарницкий В. М. и Глухарев Г. П. Ультрафильтры и ультрафильтрация, Медгиз, 1951.
Штурм Л. Д. Микроскопическое исследование нефтеносных пластовых вод. Микробиология, XIX, 32, 1950.
Эггер А. А. и Фишер С. Микроструктура ультрафильтров. Лабор. практика, I, 7—9, 1935.
Яндер Г. и Заковский И. Мембранные целла- и ультратонкие фильтры. Химтеоретиздат, Л., 1937.
Bachmann H. Das Mikrofiltrierapparat nach Gimesi. Z. Hydrologie, Jahrg. 11, Hft 3-4, 271.
Bush J. New bacteriological technic for testing water and sewage. Water. a. sew. works, April, 151, 1953.
Clark H., Goldreich E., Jeter H., Kabler P. The membrane filter in sanitary bacteriology. Publ. Health Rep., **66**, 951, 1951.
Goetz A. The concentrometer method of applying molecular filter membranes. J. Amer. Wat. Works Ass., **45**, No. 9, 933, 1953a.
Goetz A. Application of molecular filter technique to the bacterial essay of sewage. I. Proposed technique. Sew. Industr. Wastes, **25**, No. 10, 1134, 1953b.
Goetz A., Gilman R., Rann A. Application of molecular filter membranes to specific problems of water analysis. J. Amer. Wat. Works Ass., **44**, No. 6, 451, 1952.
Goetz A. a. Tsuneishi N. Application of molecular filter membranes to the bacteriological analysis of water. J. Amer. Wat. Works Ass., **43**, No. 12, 945, 1951.
Helmcke J. Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Strukturen verschiedener Membranfilter, Zbl. Bakt., Abt. I, Orig., **159**, Hft., 4, 308, 1953.
Höffling R. Nitroprussidnatrium als Differenzierungmittel innerhalb der Paratyphusgruppe, Ztbl. Bakt., Abt. I, Orig., **133**, 113, 1934—1935.
Jannasch H. W. Zur Methodik der quantitativen Untersuchung von Bakterienkulturen in flüssigen Medien. Arch. Mikrob., **18**, Hft 4, 425, 1953.
Jannasch H. W. Beitrag zur Methode der direkten mikroskopischen Untersuchung von Mikroorganismen auf Membranfiltern. Über die Aufhellung der Filter. Ztbl. Bakt., Abt. I, Orig., **161**, Hft 2/3, 225, 1954.
Kolkwitz R. Plankton-Membranfilter. Ber. Dtsch. Bot. Ges., XLII, H. 5, 205, 1924.
Kruse H. Darstellung des im hygienischen Institut der Universität Göttingen angewandten Verfahrens zur Untersuchung von Trinkwasser an B. coli mit Membranfiltern. Ztbl. Bakt., Abt. I, Orig., **153**, Hft 6/7, 241, 1949.
Kruse H. Hygienische Leitsätze für das Wasserversorgung, Ztrbl. Bakt., Abt. I, Orig., **155**, Hft. 5/7, 1950.
Reichenbach. Esmarchs hygienisches Taschenbuch. Berlin, 1930.
Richards O., Krabec M. Visibilising microorganisms on membrane filter surface. J. Bact., **67**, No. 5, 1954.
Sander F. Spaltung anorganischen Komplexsalze durch Bakterien und Anwendung dieser Salze zur Differentialnährböden. Ztbl. Bakt., Abt. I, Orig., **132**, 445, 1934.
Taylor E., Berman N., Oliver C. Use of the membrane filter in the bacteriological examination of water. J. Appl. Chem., Part **3**, 233, 1953.
Zeetti R. Nouvelle méthode d'analyse bacteriologique des eaux. Soc. Intern. di Microbiologia, Bull. Sez. Italiana, VII, fasc. V, 164, 1935.
Zsigmondy R. u. Bachmann H. Über einen neuen Filter. Z. anorg. allg. Chem. **103**, 113, 1918.

КРИТИКА

J. Lodder and N. J. W. Kreger-van Rij. **The yeasts. (A taxonomic study)** («Дрожжи, систематическое изучение»). Amsterdam, North Holland Publishing Company, 1952, 713 pp.

Одной из серьезных заслуг голландских микологов является создание в своей стране крупнейшего международного музея чистых культур грибов и актиномицетов, которые могут жить на стерильных лабораторных средах. Музей этот известен под названием Centraalbureau voor Schimmelcultures Baarn (Holland).

Организаторы его, начиная с 1906 г., неутомимо собирали из микробиологических и микологических лабораторий различных стран мира сохранившиеся культуры всех когда-либо описанных видов упомянутых организмов. В результате, по имеющимся у нас данным на 1950 г., в музее значилось 7630 культур.

Существование такого музея и возможность приобретения у него этих культур имеет большое научное значение. В частности, этим создана возможность непосредственно сравнивать вновь выделяемые в каждой стране культуры с ранее описанными в целях более точной идентификации их, а также производить сравнительные исследования известных грибов и актиномицетов в целях пересмотра и совершенствования принципов классификации этих организмов.

Во главе научного коллектива голландского музея стоит известный микробиолог проф. Клюйвер (A. J. Kluyver), директором коллекции является миколог проф. Вестердейк (Johanna Westerdijk).

За время развития музея голландские исследователи уделили особое внимание вопросам классификации дрожжей. Это выразилось в составлении и опубликовании в Амстердаме следующих, известных советским специалистам, систематических руководств:

1) N. M. Stelling-Dekker. Die sporogenen Hefen, 1931;
2) J. Lodder Die anascosporogenen Hefen. 1. Hälfte, 1934;
3) H. A. Diddens und J. Lodder. Die anascosporogen Hefen, 2. Hälfte, 1942.

Что касается рецензируемого труда, то он является новым, однотомным изданием названных руководств, пересмотренных на основе некоторых новых данных.

В настоящее время это самый полный определитель как спорообразующих, так и неспорообразующих дрожжевых организмов. Он же является и самой полной сводкой систематических сведений о них, куда входят, во-первых, данные авторов, впервые описавших те или иные культуры, и, во-вторых, данные Лоддер и Крегер-ван Рея, которые вновь изучали эти культуры по единой методике. Кроме того, в нем затрагиваются и более общие вопросы классификации микроорганизмов, что делает рецензируемую монографию особенно интересной для нас.

Эта монография состоит из семи глав.

Первую, вводную, главу авторы начинают с обсуждения вопроса о том, что такое дрожжи, и после краткого исторического экскурса приходят к выводу о невозможности дать удовлетворительное определение этого «термина».

Группа дрожжей, пишут авторы, не является ни хорошо определенной, ни гомогенной. Границы ее неясны и допускают произвольные толкования, а гетерогенность находит свое выражение в том, что дрожжи обычно относят к разным классам.

Со своей стороны авторы без всякого специального обоснования предлагают свое определение, относя к дрожжам следующие «три главные группы», или семейства:

1. Endomycetaceae, куда по традиции включены все способные к образованию спор (или аскоспор) культуры — с одной стороны, одноклеточных немицелиальных грибов-дрожжей типа сахаромицетов, а с другой — многоклеточных мицелиальных грибов типа эндомицетов.

2. Sporobolomycetaceae. К этому семейству отнесены мицелиальные грибы типа Sporobolomyces, обладающие способностью образовывать не аскоспоры, а так называемые баллистоспоры или снарядоподобные споры (точнее конидии), отбрасываемые на известное расстояние при помощи специального капельно-выделительного механизма («a drop-excretion mechanism»).

3. Cryptococcaceae. В этом семействе объединены все неспособные к образованию аскоспор или баллистоспор культуры одноклеточных немицелиальных грибов-дрожжей типа Torulopsis и некоторых многоклеточных мицелиальных грибов, при развитии которых возникают дрожжеподобные формы.

Сделав такое, в сущности произвольное, заключение, поскольку в обоснование его правильности не было приведено ни одного объективного доказательства, авторы переходят затем к принципам, которым они следовали в своей работе.

Наш главный принцип,— пишут Лоддер и Крегер-ван Рей,— заключается в при-

знании ведущей роли в систематике морфологических признаков в том смысле, что именно эти признаки должны использоваться для первичного деления организмов. Что касается физиологических свойств, то авторы широко пользовались ими для различения видов.

Второй их принцип заключался в предпочтении тех морфологических и физиологических признаков в систематике, которые могут быть выявлены простыми методами. Однако они не указывают критерия этой простоты.

В силу третьего принципа авторы не придают систематического значения мелким различиям организмов, мотивируя это желанием «оставить открытой возможность некоторых колебаний внутри каждой таксономической группы» (стр. 3). Хотя, замечают дальше авторы, выявляемые таким путем виды могут оказаться гетерогенными комплексами, однако они имеют преимущество, так как легко определяются при помощи наших стандартных методов исследования.

Перечень всех этих принципов заканчивается напоминанием давней традиции в систематике, заключающейся в том, что свойства организмов, оказавшиеся важными для практики, не рекомендуется использовать при классификации этих организмов.

Таким образом, как видно из изложенного, авторы, несмотря на имевшиеся у них большие возможности (см. выше), не внесли ничего нового в теорию современной систематики, хотя последняя, несомненно, нуждается в обновлении. Что это действительно так, стоит вспомнить хотя бы только о том, что классификация организмов, как правило, до сих пор проводится по признакам, прямо не связанным с условиями жизни этих организмов, оторванно от них. В результате и устанавливаемые таким путем систематические группы оказываются нереальными, искусственными.

Между тем в наше время становится все более очевидным, что любой организм является частью какого-то, обязательно реально существующего, вида, как группы организмов общего происхождения и общего образа жизни, что этот вид в свою очередь является частью более крупной и также реальной систематической единицы — рода, как группы видов, происшедших от одного общего предкового вида, с унаследованными от него общими особенностями, и т. д. Отсюда, чтобы выявить такие виды по отдельным особям и их потомствам, необходимо изучать не только признаки родства данных особей с другими в пределах, например, класса, порядка, семейства и рода, но и условия их обитания, а также специфические приспособления к этим условиям (независимо от природы таких приспособлений — морфологической или физиологической). Общность последних, очевидно, только и может являться тем объективным критерием, которым должны пользоваться систематики как при установлении упомянутых таксономических групп, так и при решении вопроса о каждодневном опознавании таких групп при помощи биологически безразличных, в том числе и морфологических, признаков [1]. Однако авторы даже не упоминают об этом.

По давней традиции, они считают возможным устанавливать и опознавать виды сразу и только по биологически безразличным признакам. Но число таких признаков практически бесконечно. Поэтому возникает вопрос: какие из них следует использовать при классификации?

В общей форме авторы уже ответили на него выше. Посмотрим теперь, как они конкретизируют это общее, и с этой целью перейдем ко второй главе рецензируемой монографии, посвященной подробному описанию используемых ими признаков и методов выявления таких признаков.

Напомнив снова о том, что каждая классификация основана в первую очередь на оценке морфологического сходства или различия организмов, авторы пишут, что поэтому и первичное деление дрожжей на семейства связано с тем, образуют ли они аскоспоры и баллистоспоры или не образуют [2]. Что касается классификации дрожжей на роды, то авторы использовали для этого особенности вегетативного и полового размножения: почкование и деление, место, где преимущественно развиваются почки на клетке (на полюсах или любой другой точке поверхности), форму и величину клеток, спор и т. д.

При всем этом авторы далеко не всегда придерживаются морфологического принципа классификации на роды. Так, например, дрожжи родов Hansenula и Pichia различаются ими главным образом по отношению к глюкозиду арбутину (авторы считают, что первые расщепляют его, а вторые нет); дрожжи рода Brettanomyces выделены внутри семейства Cryptococaceae по способности необычно сильно подкислять среду и т. д.

Также не всегда авторы придерживаются различения видов по физиологическим признакам, о чем говорилось выше. В одних случаях они используют отношение дрожжей к тем или иным сахарам, в других — также и способ усвоения этих сахаров (брожение или окисление), в третьих — способность к развитию на жидких средах в виде пленки, в четвертых — изменение реакции лакмусового молока и т. д. и одновременно устанавливают виды исключительно по форме и величине клеток.

В связи с этим возникает вопрос: чем же конкретным руководствовались авторы, выбирая в каждом отдельном случае одни признаки, а не другие?

---

[1] Подробнее об этом, как и о других критически обсуждаемых дальше вопросах, см. Кудрявцев. Систематика дрожжей. 1954.

[2] См. стр. 6. Таким образом, оказывается, что способность к образованию аскоспор или баллистоспор является морфологическим признаком, с чем, конечно, нельзя согласиться. К сожалению, такова внутренняя логика современной систематики, на что мы уже обращали внимание.

Ответ на него мы находим в третьей главе монографии, где основное внимание уделено проблеме изменчивости дрожжей и ее значению в систематике.

Названная проблема изложена авторами исключительно под углом зрения теории автогенеза.

Так, например, все наследственные изменения признаков дрожжей объясняются или генными мутациями (генотипическая изменчивость), или мутациями некоторых органоидов, например пластид (цитоплазматическая изменчивость), или, наконец, расщеплениями после скрещивания.

Справедливости ради следует отметить, однако, что в приводимом обзоре работ по изменчивости авторы все же напоминают читателям, что вопрос о хромосомах у дрожжей остается еще открытым и поэтому все сообщения о генных мутациях и полиплоидии основаны пока только на более или менее поверхностной аналогии с явлениями, наблюдаемыми у высших организмов. Тем не менее, если к сказанному добавить, что половой процесс наблюдался авторами только у очень немногих дрожжей, а вопрос о роли единства организмов с условиями жизни в процессе эволюции живой природы не обсуждался совсем, то советский читатель вынужден будет заключить, что многочисленные факты изменчивости дрожжевых организмов получили в монографии весьма одностороннее освещение.

Это наложило свой специфический отпечаток и на решение вопросов систематики. Так, Лоддер и Крегер-ван Рея сильно беспокоит, что всем упомянутым выше типам изменчивости подвержены как раз многие из тех морфологических признаков дрожжей, которые высоко оцениваются в ботанической таксономии, и что это угнетающе действует на систематиков упомянутых организмов. Однако они находят выход в том, что некоторые из морфологических признаков очень стойки, например размножение делением у шизосахаромицетов, биполярное почкование у Saccharomycodes, треугольная форма клеток у Trigonopsis и т. д. Подобные признаки и должны, по мнению авторов, использоваться при первичной классификации на крупные (выше вида) группы.

Что касается физиологических признаков, то, по авторам, наиболее постоянными из них и даже «практически неизменными» являются ферментативные свойства[3]. Поэтому такие свойства широко используются при различении видов. Вместе с тем авторы обращают внимание на следующий факт.

Изучение ферментативной активности дрожжей разных видов показывает, что между ними часто имеются не резкие, а лишь постепенные переходы. Отсюда Лоддер и Крегер-ван Рей приходят к широкому обобщению, утверждая, что в природе будто бы нет ясно очерченных групп организмов, подобных тем, какие мы называем видами, родами и т. д., а есть лишь серии (ряды) организмов, характеризующиеся различными комбинациями свойств, которые постепенно изменяются от одной группы к другой. Поэтому, пишут авторы, установление границ упомянутых систематических групп в значительной мере зависит от интуиции исследователя (стр. 48).

Смысл этого утверждения заключается в признании того общеизвестного положения, по которому каждый систематик имеет будто-бы право классифицировать организмы так, как ему подсказывает личный опыт, научный такт и систематическое чутье (см. П л а т е. Эволюционная теория, пер. с нем. М.—Л., 1928). Но мы не можем согласиться с таким субъективистским методом классификации и считаем, что систематики обязаны стремиться к выявлению объективно существующих групп организмов — таких, как виды, роды, семейства и т. д. В наличии их в природе нас убеждает повседневная жизнь, практика, а теория творческого мичуринского дарвинизма дает нам рациональное объяснение того, как происходят эти группы. Что же касается сознательно защищаемой многими современными авторами субъективистской линии в систематике, то, по нашему мнению, такая линия неизбежна лишь для тех, кто отстаивает обязательность использования только биологически безразличных признаков. Как уже отмечалось выше, число таких признаков бесконечно и в них самих нет объективной меры сходства и различия организмов. Поэтому систематики вынуждены под флагом интуиции вносить какую-то меру от себя. Но так как каждый делает это по-своему, то издавна наблюдается неудержимый рост все новых классификаций одних и тех же организмов, а вместе с ним и неудерживаемый рост их синонимов. Однако всего этого можно избежать, если виды внутри их родов будут различать не по биологически безразличным признакам, а по характеру местообитания организмов и по приспособлению к условиям этого обитания, т. е. по тем особенностям, в силу которых данные виды произошли и существуют независимо от систематиков.

В четвертой главе излагаются общие рассуждения авторов о классификации дрожжей и приводятся диагнозы всех систематических групп выше вида.

Мы ограничимся здесь проведением только схем классификации каждого семейства в отдельности и, начав со спорообразующих дрожжей, отметим наиболее существенные изменения, внесенные авторами по сравнению с прежними схемами (см. схему 1).

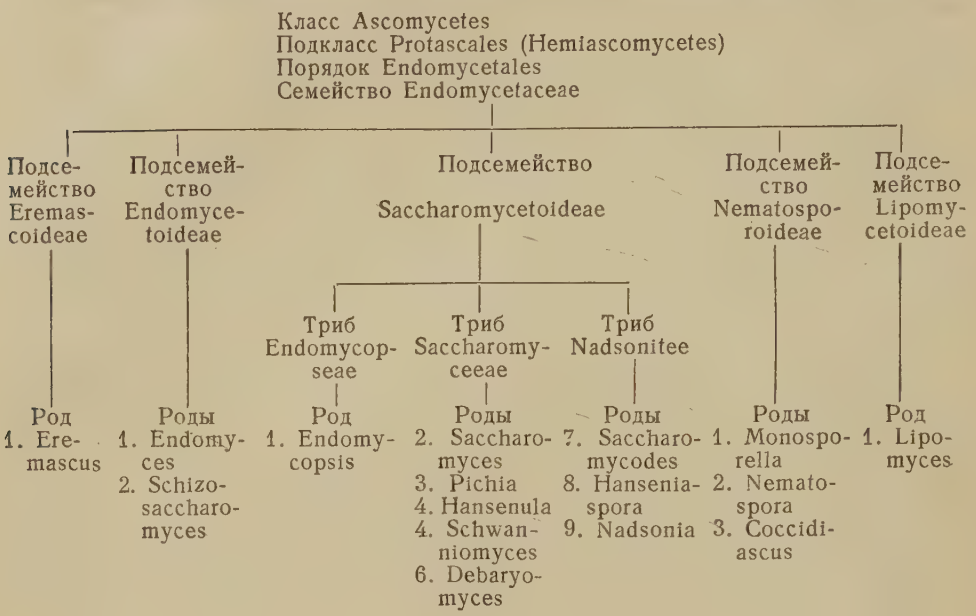
Приведенная схема отличается от схемы Штеллинг — Деккер, во-первых, тем, что в ней введено новое, пятое, подсемейство Lipomycetoideae, состоящее из одного нового

---

[3] Авторы объясняют это тем, что все энзимы контролируются генами и что в отсутствие соответствующего гена энзим не может образоваться.

Схема 1

Систематическое положение и родовой состав спорообразующих дрожжей



рода Lipomyces и двух видов L. lipoferus и L. Starkeyi. Эти, выделенные из почвы, организмы обладают весьма своеобразным и еще недостаточно изученным циклом развития. В их сумках насчитывается до 16 и больше спор. На среде, бедной азотом и богатой углеводами, образуется большое количество жира.

Второе существенное отличие новой схемы заключается в том, что давно известные и считавшиеся самостоятельными роды дрожжей Saccharomyces и Zygosaccharomyces объединены в один род — Saccharomyces. Точно так же дрожжи родов Pichia и Zygopichia объединены в род Pichia, а роды Hansenula и Zygohansenula в род Hansenula.

К роду Saccharomyces отнесены затем (кроме Zygosaccharomyces) дрожжи рода Torulaspora и те виды рода Debaryomyces, организмы которых вызывают брожение сахаров.

Если добавить, что, вследствие недостатков прежней систематики, к родам Saccharomyces и Zygosaccharomyces были отнесены некоторые несомненно чуждые им виды, то окажется, что род Saccharomyces в конструкции Лоддер и Крегер-ван Рея состоит из очень разных по характеру углеводного обмена организмов шести биологически самостоятельных родов — Zygosaccharomyces, Torulaspora, Debaryomyces, Fabospora, Zygofabospora и Zygowillia.

На схеме 2 представлена классификация семейства Sporobolomycetaceae — грибов, образующих снарядоподобные споры, или баллистоспоры.

Схема 2

Класс Basidiomycetes(?) или Fungi imperfecti(?)
Семейство Sporobolomycetaceae

Роды

1. Sporobolomyces
2. Bullera
3. Tilletiopsis
4. Itersonilia

В прежних систематических руководствах (см. Lodder, 1934) эти организмы совсем не включались в группу дрожжей. Но и в настоящее время дрожжами признаны только первые два рода. Что касается третьего и четвертого родов, то, по словам авторов, они «не принадлежат к дрожжам» (стр. 63).

На схеме 3 изображено по материалам авторов систематическое положение и родовой состав неспорообразующих дрожжей.

За последние 20—30 лет предлагаются все новые и новые классификации этих организмов, причем схемы таких классификаций, затрагивающих как виды, так и более

Схема 3

Класс Fungi inperfecti (Deuteromycetes)
Порядок Cryptococcales
Семейство Cryptococcaceae

Подсемейство Cryptococcoideae	Подсемейство Trichosporoideae	Подсемейство Rhodotoruloideae
Роды	Род	Род
1. Cryptococcus	1. Trichosporon	1. Rhodotorula
2. Torulopsis		
3. Pityrosporum		
4. Brettanomyces		
5. Candida		
6. Kloeckera		
7. Trigonopsis		

крупные (вплоть до порядков) систематические группы, резко меняются даже с участием одного и того же автора (ср. данные Lodder, 1934; Diddens u. Lodder, 1942 и рецензируемой монографии). Однако практическое распознавание неспорообразующих дрожжей все время было крайне затруднено. Будущее покажет, изменилось ли это положение после выхода в свет нового определителя Лоддер и Крегер-ван Рея.

В пятой, шестой и седьмой главах даются описания видов каждого рода по семействам, причем авторы почти во всех случаях придерживались одной и той же схемы описания.

Приведу эту схему, чтобы в краткой рецензии возможно более полно отразить сущность нового определения дрожжей:

1. Диагноз рода.
2. Название типового вида рода [4].
3. История родового названия.
4. Список видов рода (в представлении авторов).
5. Ключ для определения видов рода.
6. Название вида.
7. Синонимы.
8. Первоначальное описание вида и краткие сведения о нем из работ последующих авторов.
9. Стандартное описание вида, предложенное Лоддер и Крегер-ван Реем и состоящее из следующих разделов:

а) характеристика дрожжей при развитии в солодовом сусле, на солодовом агаре в пробирках и тонком слое питательного агара на предметном стекле (the slide culture method); при этом описываются: форма и величина клеток через три дня развития при 25° и внешний вид штриховой культуры через месяц после посева при 17°;

б) характеристика спорообразования: форма спор, число их в аске, способ образования и прорастания;

в) отношение к углеводам — брожение и отдельно окисление глюкозы, галактозы, сахарозы, рафинозы, мальтозы и лактозы;

г) отношение к нитратам, как единственному источнику азота;

д) отношение к этанолу, как единственному источнику углерода;

е) способность расщепления арбутина.

10. Заключение.

11. Откуда были получены изученные штаммы, кем, когда и из какого субстрата выделены.

Из приведенной схемы описания видно, что авторы совершенно не затрагивают вопроса об истинном местообитании дрожжевых организмов (в противоположность случайному — при случайном заносе) и, следовательно, о взаимосвязи их с условиями жизни в своем обитании.

В этом именно заключается причина не только абстрактности видовых диагнозов, но и их крайней бедности содержанием.

В конце каждой главы приводятся обширные литературные указатели международной литературы, на которые авторы ссылаются в тексте. К сожалению, данные советских исследователей почти не использованы.

При всех сделанных критических замечаниях рецензируемая монография, несомненно, будет полезна, особенно для тех молодых советских микробиологов, которые не удовлетворены современным состоянием систематики изучаемых организмов и попытаются внести свой вклад в эту очень важную область нашего знания.

В. И. Кудрявцев

[4] Вид, с которым связывается название данного рода.

ХРОНИКА

СОВЕЩАНИЕ ПО ПОВЫШЕНИЮ ПЛОДОРОДИЯ ПОЧВ НЕЧЕРНОЗЕМНОЙ ЗОНЫ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ СССР

С 7 по 14 декабря 1954 г. Центральным музеем почвоведения и Почвенным институтом АН СССР было проведено совещание по повышению плодородия почв нечерноземной зоны европейской части СССР. В работе совещания приняли участие, кроме учреждений АН СССР, работающих в нечерноземной зоне, институты академий наук Белорусской, Эстонской, Литовской и Латвийской республик, а также работники институтов Всесоюзной сельскохозяйственной академии им. В. И. Ленина, Ленинградского государственного университета, областные сельскохозяйственные организации, агрономы МТС и опытных станций областей. Совещание заслушало 44 доклада и свыше 30 содокладов и фиксированных выступлений по вопросам, связанным с районированием и характеристикой почв нечерноземной зоны, а также обработкой, удобрением и мелиорацией этих почв.

Совещание открыла директор Центрального музея по почвоведению им. В. В. Докучаева доктор г.-м. наук З. Ю. Шокальская. С основным докладом на тему «О задачах научных учреждений по проблеме повышения урожайности (эффективного плодородия почв) в нечерноземной полосе» выступил директор Почвенного института АН СССР И. В. Тюрин.

Вопросы микробиологии почв среди других вопросов занимали незначительное место на совещании, так как стоявшие в программе ведущие доклады по микрофлоре почв подзолистой зоны Н. А. Красильникова и Е. Н. Мишустина не состоялись и было заслушано только несколько фиксированных выступлений, вызвавших, однако, большой интерес у участников конференции.

А. В. Рыбалкина (Почвенный институт АН СССР) выступила с сообщением на тему «Микрофлора почв нечерноземной полосы». Она говорила о необходимости отличать потенциальное богатство почвы разнообразными группами микроорганизмов, выявленное методом группового анализа, от активно развивающейся микрофлоры в данный момент, выявленной методом обрастания агаризованных стекол.

Потенциально почва может быть богата различными агрономически важными группами микроорганизмов, но в определенные периоды развиваются только одни группы и отсутствуют другие, или же обрастания стекол почти совсем не происходит, тогда как в другие периоды в той же почве происходит очень интенсивное обрастание самыми различными формами. Дерново-подзолистые почвы характеризуются резкими колебаниями в количестве микроорганизмов в течение сезона. Эти колебания наблюдаются как для аэробных, так и для анаэробных групп организмов. На основании данных, полученных для одного и того же сезона в различные годы, можно сказать, что дерново-подзолистые почвы характеризуются высоким бактериальным населением. Эти данные подтверждаются и стеклами обрастания. Морфологически микробные формы, развивающиеся на стеклах в условиях влажных почв, в значительном большинстве находятся в вегетативной стадии развития, что может служить показателем того, что в этот период физиологические процессы протекают активно, а почва является системой, напоминающей проточную «культуру».

Т. В. Аристовская (Почвенный музей АН СССР) в сообщении на тему «Опыт применения метода проточных культур к изучению микроорганизмов почвы» рассматривает почву как среду обитания микроорганизмов, характеризующуюся способностью к регулярному самообновлению или проточности. При изучении почвенных микроорганизмов этому фактору (т. е. проточности) не уделяется должного внимания, а он, несомненно, играет большую роль в формировании почвенной микрофлоры и в значительной степени определяет ее активность. В результате опытов с культурами грибов выяснилось, что проточность среды оказывает сильное влияние на физиологические свойства организмов, изменяя скорость их развития, увеличивая степень превращения ими субстрата, изменяя характер конечных продуктов этого превращения и, наконец, повышая ферментативную активность организмов. Характер проточности среды имеет одинаково большое значение как для аэробных, так и для анаэробных процессов. При этом важно не столько поступление свежего субстрата, сколько регулярное удаление продуктов обмена. Различные почвы, безусловно, характеризуются разной степенью проточности и для правильного понимания происходящих в почве процессов необходимо найти пути и методы определения напряженности этого фактора и изучить требования различных организмов к фактору проточности.

В сообщении «О роли наиболее распространенных в почве сапрофитных грибов в образовании и разложении перегноя» А. Г. Романкова (ЛГУ) обратила внимание на необходимость расширять и углублять эколого-физиологические исследования, которые помогли бы создать представление о возможности проявления физиологических свойств организмов в данных почвенных условиях.

Изучая грибную флору подзолистых почв различных областей СССР, т. Романкова показала, что видовое разнообразие сапрофитных грибов в подзолистых почвах зависит от совокупности условий, как то: содержания органического азота, аэрации, pH, обменных оснований.

При изучении ферментативных свойств грибов при различных значениях pH выяснилось, что одни ферментативные свойства их активируются в условиях низкого значения pH, другие же лучше проявляются при нейтральной реакции. Многие формы грибов в условиях подзолистых почв являются кислотоустойчивыми, но не кислотолюбивыми. Среди почвенных сапрофитных грибов одни экологические группы могут проявить свою активную деятельность в условиях хорошо окультуренных подзолистых почв, другие в подзолистых слабо окультуренных и лесных почвах. Первая группа характеризуется слабыми протеолитическими свойствами и высокой окислительной ферментной системой. С ее деятельностью связано разложение растительных остатков и образование перегноя. Вторая экологическая группа грибов характеризуется высокой активностью протеолиза и слабыми кислотообразующими свойствами. По предположениям докладчика они имеют значение в разложении перегноя.

Выступивший в прениях проф. А. В. Соколов указал, что вышеизложенные сообщения интересны тем, что они показали, насколько важно глубокое понимание тех явлений, которые действительно происходят в почве. Они потверждают правильность положения Виноградского, что, для того чтобы правильно использовать почву, микробиолог должен менять условия жизни микробов. Главной задачей является обеспечение нормального разложения органического вещества. Азот, основной элемент, от которого зависит жизнь растений, должен найти наибольшее отражение в наших работах, поэтому вопросу биологического накопления азота должно быть уделено особое внимание.

Выступившие в прениях тт. Аристовская, Катанская и другие подчеркнули важность перехода к более тонким исследованиям почвенной флоры и поисков новых путей в исследованиях микрофлоры почв.

На секции агрохимии и микробиологии почв были заслушаны сообщения И. И. Тарвидаса, Л. М. Дороспнского и Н. М. Лазарева.

И. И. Тарвидас (АН Литовской ССР) сделал сообщение на тему «Влияние некоторых агроприемов на почвенную микрофлору в условиях Литовской ССР». Докладчик отметил, что различные агроприемы, как известкование, применение минеральных и органических удобрений, различные способы обработки почвы, в том числе и углубление пахотного слоя в условиях дерново-подзолистых и болотных почв Литовской ССР, более или менее изменяют почвенную микрофлору. Приемы, способствующие созданию более благоприятных условий для роста и развития растений и тем самым получению более высоких урожаев, влекут за собой, как правило, увеличение количества почвенных микроорганизмов. Однако необходимо углубить исследования для более полного выяснения влияния различных агроприемов на деятельность почвенных микроорганизмов и различных микробиологических процессов в почве, связанных с созданием условий роста и развития растений и, в особенности, с обеспечением их питательными веществами.

В сообщении Л. М. Дороспнского (Институт сельскохозяйственной микробиологии ВАСХНИЛ) на тему «Применение азотобактерина на подзолистых почвах» излагались данные, полученные в опытах с применением азотобактерина. Наибольшее количество азотобактера и наилучшая его приживаемость были обнаружены при комбинированном внесении его с перегнойными смесями в количестве 0,5 т и 2 т. В остальных вариантах опыта азотобактер быстро погибал.

Этот же вариант опыта дал наибольший эффект на прибавку урожая.

Определение азотфиксирующей способности штаммов азотобактера, выделенных из различных вариантов опыта, показало, что наиболее энергичным азотфиксатором являлся штамм, выделенный из опыта с перегнойной смесью.

Н. М. Лазарев (Институт сельскохозяйственной микробиологии ВАСХНИЛ) в сообщении «Роль микрофлоры в корневом питании растений» изложил результаты вегетационных опытов в смеси песка и каолина. Были поставлены опыты в стерильной среде с заражением почвенной микрофлорой. В случае стерильной среды растения почти не развивались. Добавление ничтожного количества почвенной болтушки к стерильной среде дало нормальный урожай. На основании полученных данных т. Лазарев считает, что на разных стадиях разложения — синтеза органического вещества создаются разные условия корневого питания растений. Стадия переработки растительных остатков создает неблагоприятные условия для растений, стадия переработки перегноя — благоприятные. Растения начинают хорошо себя чувствовать при появлении аутохтонной микрофлоры Б, так как корневое питание связано с наличием в почве этой группы организмов.

Выступившая в прениях Т. В. Аристовская указала Н. М. Лазареву, что стерильная среда является артефактом, в природе таких явлений нет. В стерильной среде происходит накопление продуктов обмена, поэтому нельзя считать, что благоприятное влияние микроорганизмов на растение обусловлено тем, что улучшаются условия корневого питания.

Здесь улучшаются условия для жизни растений, так как благодаря микроорганизмам среда непрерывно самообновляется.

По вопросу применения бактериальных удобрений почти все выступавшие в прениях (А. В. Соколов, Д. Л. Аскинази и другие) указывали на то, что условия положительного действия бактериальных препаратов недостаточно выяснены и необходимо заниматься теоретическим обоснованием условий применения и механизма действия различных бактериальных препаратов. Также подчеркивалась необходимость развития эколого-физиологического направления в применении культур бактерий.

На заключительном заседании 14 декабря было принята резолюция, в которой было охарактеризовано современное состояние науки в области изучения вопросов повышения плодородия почв нечерноземной полосы и указаны организационные пути для ускорения внедрения достижений науки в практику.

А. В. Рыбалкина

ПО НАУЧНЫМ УЧРЕЖДЕНИЯМ ГЕРМАНСКОЙ ДЕМОКРАТИЧЕСКОЙ РЕСПУБЛИКИ

Для участия в празднованиях пятилетия Германской Демократической Республики Академией наук СССР была направлена делегация деятелей науки и культуры. Делегацию возглавлял главный ученый секретарь Президиума Академии наук СССР акад. А. В. Топчиев. Как представители биологической науки в составе делегации были член-корр. АН СССР Е. Н. Мишустин и зам. директора Главного ботанического сада АН СССР д-р с.-х. наук П. И. Лапин.

В полном составе делегация АН СССР присутствовала на торжественном заседании, организованном правительством ГДР, а также на митинге жителей Берлина, посвященном знаменательному юбилею.

После торжеств, благодаря любезности руководства Академии наук Германии, Академии сельскохозяйственных наук ГДР и общества «СССР — ГДР», члены делегации имели возможность ознакомиться с работой интересовавших их научных и учебных заведений страны. В свою очередь они прочли ряд докладов и лекций о достижениях советской науки. В настоящей статье мы задержимся лишь на некоторых общих вопросах, связанных с развитием биологической науки в ГДР, и более детально разберем исследования, проводимые в области микробиологии. Этот анализ, правда, строится на основе ознакомления с работой ограниченного числа учреждений и соответствующей литературой. Исчерпывающим он, конечно, не может быть признан.

Академия наук Германии, центр которой находится в демократическом секторе Берлина, объединяет ученых как ГДР, так и Западной Германии. Из 110 действительных членов Академии несколько больше половины живет в ГДР, а остальные — в Западной Германии и секторах Берлина, находящихся под контролем Англии, Франции и США. На общие собрания Академии приглашаются все действительные члены, и значительная часть их активно участвует в решении академических дел. Сеть научных учреждений биологического профиля в Академии наук Германии невелика и в основном решает вопросы агрономического характера. В области биологии работают следующие учреждения Академии наук Германии: Институт медицины и биологии, Институт растениеводства и Институт агрохимии.

Около трех лет назад в ГДР была организована Академия сельскохозяйственных наук, умело объединившая большое число опытных учреждений. Достаточно указать, что в составе Академии сельскохозяйственных наук имеется 32 научно-исследовательских института, занимающихся различными разделами сельскохозяйственной науки. Эти учреждения созданы на базе большой и давно существовавшей сети разрозненных опытных станций и производственных лабораторий. Лишь один Институт растениеводства включил в себя более 100 опытных учреждений различных частных фирм.

В Германии в крупных масштабах уже давно велись работы по ряду разделов сельскохозяйственной науки, как, например, селекции, агрохимии, биохимии и т. д. Не удивительно, что эти разделы очень хорошо сейчас представлены и в учреждениях, существующих при Академии наук и Академии сельскохозяйственных наук. О размерах ведущейся в данном направлении работы можно создать представление хотя бы по тому, что ежегодно научно-исследовательские учреждения ГДР, уточняя агрохимические карты, производят до 2,5 млн. анализов почв.

Плановые микробиологические исследования начинают только что развиваться в сети отмеченных учреждений, и их направление в достаточной мере четко пока еще не определилось. Проводимая работа носит в значительной степени поисковый характер, но тем не менее здесь выполнен ряд интересных работ.

Некоторые работы в области общей и сельскохозяйственной микробиологии проводятся в ряде медицинских учреждений Министерства здравоохранения ГДР (например, Институте микробиологии в Иене), а также на кафедрах университетов. Академия наук и Академия сельскохозяйственных наук до известной степени координируют эту работу, так как планы исследовательских работ научных учреждений других систем, а также учебных заведений направляются им на отзыв.

Крупнейшим научно-исследовательским учреждением ГДР в области микробиологии

является Институт микробиологии, находящийся в Иене. Данное учреждение подчинено в настоящее время Министерству здравоохранения и имеет в основном медицинское направление работ. Однако прекрасная оснащенность этого института позволяет ему ставить на решение ряд крупных теоретических проблем, имеющих принципиальное значение для развития микробиологии. Поэтому в настоящее время практически решено Институт микробиологии передать в ведение Академии наук Германии. Оформление данного вопроса, очевидно, будет проведено в самое ближайшее время.

Институт микробиологии основан лишь в 1950 г. на базе производственной лаборатории фирмы «Иена-Фарм», готовившей во время войны некоторые лечебные препараты, специальную посуду и производившей микробиологический контроль ряда веществ. По намеченному плану, который в основном близится к осуществлению, микробиологический институт представляет собой целый городок, включающий лабораторные корпуса, терапевтическое отделение и жилые дома для большого штата сотрудников.

Рабочие корпуса Института микробиологии имеют довольно простую архитектуру, но помещения не оставляют желать чего-либо лучшего по продуманности их планировки, полноте оборудования и заботе об условиях труда. Достаточно сказать, что почти все старшие сотрудники, помимо рабочих очень просторных помещений, имеют специальные кабинеты для литературной работы (Denkzimmer).

В перспективе штат института должен иметь до 500 человек. Сейчас в нем работает около 330 сотрудников. Институт возглавляет проф. Кнёлль (Knöll).

Заслуживает внимания штатное расписание института. Оно включает 55 научных сотрудников, 24 инженера, 130 лаборантов, 100 лиц вспомогательного персонала, 20 техников.

Приведенные цифры показывают, что научные сотрудники хорошо обеспечены технической помощью. Большое внимание уделено инженерно-конструкторскому цеху, в котором могут быть сконструированы все нужные для работ института приборы.

В состав института входит ряд крупных отделов, в свою очередь распадающихся на лаборатории. Сейчас в институте имеются следующие отделы: 1) микробиологии, 2) антибиотиков, 3) химии, 4) терапевтический, 5) вакцинный, 6) виварий.

Об объеме работы можно судить хотя бы по тому, что виварий института имеет до 20 000 морских свинок, конюшню и т. д. Клинические исследования проводятся в другом месте (Эрфурт).

Некоторые отделы института в настоящее время уже более или менее полно развернули свои исследования, другие же лишь оборудуются. Так, например, терапевтическое отделение сейчас строится. Оканчивается сооружение богато оборудованного полузаводского цеха антибиотического отдела и т. д.

Отдел микробиологии имеет следующие лаборатории: 1) общей микробиологии, 2) кабинет электронной микроскопии, 3) биофизики, 4) патогистологии, 5) исследования раковых заболеваний.

Вопрос выращивания культур для производственных целей изучает химическое отделение, в программу работ которого входит также разработка технологии производства антибиотиков, химических препаратов и т. д.

В институте хорошо оборудована фото-кинолаборатория, заснявшая ряд интересных фильмов по тематике работ института.

Из работ общего порядка, проводящихся в институте, можно отметить изучение подходов к селекции производственно важных культур микроорганизмов, электронно-микроскопическое исследование структуры клетки бактерий, а также строения фагов. Последние работы проводятся проф. Цопфом (Zopf). Надо отметить, что институт располагает электронным и электронно-магнитным микроскопами. Имеющиеся микротомы позволяют делать для гистологического изучения срезы до 0,1 μ.

Интересная работа проводится по исследованию механизма действия антибиотиков на клетки микроорганизмов. Некоторые результаты этих работ засняты на кинопленку.

Вопросы, связанные с микробиологией почвы, институт не изучает, но проводит обстоятельные исследования по микрофлоре воздуха. Особенно внимательно выясняются подходы к очищению воздуха от микроорганизмов путем применения аэрозолей.

В институте проводятся представляющие несомненный интерес работы по лиофильной сушке культур микроорганизмов. В основном они ориентированы на приготовление сухих вакцин. Некоторые препараты сухих вакцин уже выпускаются институтом.

Крупной научно-исследовательской единицей является Институт растениеводства Академии наук Германии (Institut für Pflanzenforschung), находящийся в Гатерслебене и возглавляемый президентом Академии сельскохозяйственных наук проф. Штуббе (Stubbe). Институт имеет около 500 сотрудников, из числа которых лишь 35 падает на научный штат. Институт расположен в сельском районе, где за несколько последних лет построен целый городок первоклассно оснащенных лабораторий и небольших жилых домов для научного и технического персонала.

Институт был создан в Вене в 1943 г., но во время войны эвакуировался в место настоящего его пребывания. В основном институт изучает вопросы, связанные с селекцией сельскохозяйственных культур, но имеет ряд лабораторий, занимающихся общетеоретическими вопросами. Такова, например, лаборатория проф. Мотеса (Motes), изучающая обмен белковых веществ у растений и некоторые другие проблемы, лаборатория проф. Метцнера (Metzner), исследующая влияние разных физико-химических воздействий (рентген, ультразвук и т. д.) на растительные объекты, и т. д.

Из поля зрения института не выпадают и вопросы микробиологического характера. Так, например, д-р Рем (Rehm) изучает возможность использования явления антагонизма для борьбы с фузариозом озимой ржи, озимой пшеницы и некоторых других культур. Им выделен штамм актиномицета, подавляющего возбудителя заболевания. Нативной культуральной жидкостью этого микроорганизма обрабатываются высеваемые семена, и, судя по ряду опытов, нередко это дает вполне положительный результат.

Следует отметить, что вопрос об исследовании явления микробного антагонизма и антибиотических веществ разрабатывается также в зональном Научно-исследовательском сельскохозяйственном институте в г. Ашенлебене (Institut für landwirtschaftliches Versuchs- und Untersuchungswesen), который нам посетить не удалось.

Д-р Рем изучает также распространение азотобактера в почвах полей Института растениеводства.

Д-р Шлегель (Schlegel) изучает бактерий, окисляющих водород, и роль этого процесса в физиологических отправлениях отдельных групп микроорганизмов. Установлено, что если у некоторых специфических микробов окислительная реакция имеет энергетическое значение, то у сапрофитных бактерий, вызывающих этот процесс, получаемая энергия для синтетических процессов не используется.

Весьма интересные исследования проводятся со спорыньей (Claviceps purpurea). Культура данного гриба используется для заражения ржи с целью сбора рожков, идущих в специальные лаборатории, добывающие фармацевтические вещества. В лаборатории проф. Мотеса изучаются методы культивирования спорыньи и опыления ею злаков. Обнаружено, что встречаются безалкалоидные расы данного организма. Обычно они лишены пигмента. Установлено, что диплоидная рожь дает рожки, по размеру превышающие в два-три раза обычные. Данная работа проводится в сотрудничестве с фирмой «Медаус», находящейся в Дрездене.

В физико-химической лаборатории института д-р Загромская (Sagromsky) исследует влияние разных лучей спектра и ультразвука на высшие растения и некоторые грибы (Trichotecium).

Заслуживают внимания некоторые работы в области микробиологии, проводящиеся в одном из крупнейших институтов Академии сельскохозяйственных наук — Институте растениеводства (Institut für Pflanzenzucht), расположенном в Кветлинбурге. Директором института является вице-президент Академии сельскохозяйственных наук проф. Беккер (Becker). В отделе физиологии растений, возглавляемом проф. Шнейдером (Schneider), разрабатываются биохимические основы иммунитета растений. Д-р Зорген (Sorgen) считает, что пигментированные растения обладают значительно большей устойчивостью к фитопаразитам, чем не имеющие пигмента. Предложен изящный способ для установления бактерицидных свойств водных вытяжек из растительных тканей. Установлено также, что токсически действующие на микроорганизмы темноокрашенные вещества должны быть отнесены к группе антоцианов.

В Институте садоводства (Institut für Gartenbau) в Пильнице, входящем в систему Академии сельскохозяйственных наук, изучаются вопросы как селекции растений, так и переработки сельскохозяйственной продукции. Между прочим здесь имеются разделы, связанные с виноделием, а также консервированием плодов и овощей. В микробиологической лаборатории института работает д-р Ремш (Remsch), занимающийся в значительной мере изучением культур дрожжей для целей плодового виноделия. Им выделен и рекомендуется для практики ряд ценных культур микроорганизмов, улучшающих брожение и придающих вину хороший аромат.

В отмеченной лаборатории исследуются также с микробиологической точки зрения режимы стерилизации компотов, изготовляемых из разных плодов.

Выясняются и некоторые вопросы, связанные с заболеваниями растений, причиняющими в местных условиях существенный вред. Особое внимание уделяется вирусным заболеваниям огурцов и условиям, предупреждающим появление этих заболеваний.

В садоводстве широко применяется смесь торфа с разными видами почв. Лаборатория д-ра Ремша выясняет распространение некоторых патогенных грибов в этих субстратах с целью предотвращения болезней культурных растений.

Некоторые исследования по микробиологии ведутся и в других сельскохозяйственных институтах, входящих в состав Академии сельскохозяйственных наук.

Так, например, в Иене расположен зональный Научно-исследовательский сельскохозяйственный институт (Institut für Versuchs- und Untersuchungswesen), в составе которого имеется микробиологическая лаборатория. Ее возглавляет проф. Кетчер (Ketscher). Основная работа данной лаборатории направлена на изучение условий эффективной переработки органических удобрений (в основном навоза) на газ. Навоз разводится в воде при соотношении составных частей 1 : 1 и перерабатывается при помощи микрофлоры, естественно развивающейся в имеющейся массе. Газ отводится в газгольдер, откуда используется для технических нужд. Из одной тонны навоза получается около 65 м³ газа, на 60% состоящего из метана.

В институте разработана конструкция непрерывно действующей установки. Несброженный остаток периодически выпускается из бродильной камеры и вывозится на поля как жидкое органическое удобрение. В данной работе проф. Кетчеру помогает молодой микробиолог Пох (Poch).

Почвенно-микробиологические исследования сводятся к выявлению наличия в сточных водах патогенных микроорганизмов и к изучению выживаемости в почве некоторых болезнетворных микроорганизмов (возбудителей туберкулеза и т. д.).

Изучаются также микроорганизмы, сбраживающие органические кислоты и имеющие значение в процессах, происходящих в бродильных камерах при переработке навоза. В работах последнего профиля участвует другой помощник проф. Кетчера — Унгар (Ungar).

Как уже отмечалось выше, известная роль в научно-исследовательской работе, проводимой в стране, принадлежит университетам. Нами были посещены Берлинский, Иенский и Лейпцигский университеты.

В Берлинском университете микробиология является частью общего курса ботаники, читается проф. Ноаком (Noak), ранее занимавшимся некоторыми вопросами из области микробиологии. Однако сейчас он интересуется лишь физиологией растений.

На сельскохозяйственном факультете Берлинского университета, как и на соответствующих факультетах других университетов ГДР, сведения по микробиологии излагаются в курсе почвоведения. Этот курс в Берлинском университете читается проф. Тренелем (Trenel). Исследовательскую работу по почвенной биологии вообще и микробиологии в частности он не ведет. Однако некоторые исследования по вопросам почвенной микробиологии проводятся на том же факультете на кафедре бродильного дела д-ром Баушем (Bausch), который интересуется утомлением почвы на полях орошения. Заведующий кафедрой проф. Кох (Koch) сам изучает пороки пива, вызываемые микроорганизмами (педиококками и некоторыми культурами дрожжей).

В Иене на сельскохозяйственном факультете университета курс микробиологии как составную часть курса почвоведения читает проф. Михаель (Michael). При кафедре ведется небольшая исследовательская работа, в основном сводящаяся к изучению роли отдельных элементов в питании гриба Aspergillus niger.

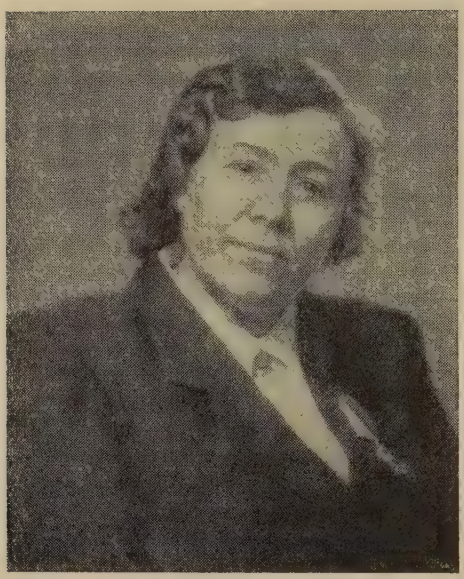
Кафедра почвоведения сельскохозяйственного факультета Лейпцигского университета возглавляется проф. Плахи (Plachy), который одновременно является главным ученым секретарем Академии сельскохозяйственных наук. Курс микробиологии почвы читается на указанном факультете проф. Плахи, и небольшая группа его помощников ведет при кафедре научно-исследовательскую работу по отдельным вопросам агрономической микробиологии. Так, здесь изучается действие редких элементов на рост и азотфиксирующую способность клубеньковых бактерий, а также уточняется возможность использования серологического метода для диагностики этих бактерий (Hähnel). Исследуются также молочнокислые бактерии, могущие быть использованными для изготовления кисломолочных продуктов (Kleeberger) и т. д. При кафедре развернута также работа по изучению условий образования и свойств перегнойных кислот (Heinish). Отмеченные работы в значительной степени связаны с выполнением докторских диссертаций.

* * *

Большое путешествие, предпринятое по стране, дало нам возможность всесторонне ознакомиться с жизнью не только научных и учебных заведений, но и широких масс трудящихся Германской Демократической Республики. Эта задача облегчалась большим вниманием, уделявшимся советской делегации государственными и общественными учреждениями, а также отдельными лицами, с которыми нам приходилось встречаться. Теплое, дружеское отношение позволило нам за короткий период пребывания в ГДР получить в достаточной мере полное представление о той грандиозной работе, которую ведет в послевоенный период немецкий народ по строительству нового демократического государства. Расцвет культуры и науки в ГДР красочно отражают имеющиеся достижения.

Немецкий народ убежден, что, опираясь на опыт и поддержку СССР, он сможет в кратчайшее время добиться еще бо́льших результатов.

Е. Н. Мишустин



НИНА ВАСИЛЬЕВНА МОРОЗОВА-ВОДЯНИЦКАЯ

После тяжелой болезни, на 61-м году жизни, скончалась крупнейший альголог-гидробиолог зав. Гидробиологической лабораторией Севастопольской биологической станции доктор биологических наук, профессор Нина Васильевна Морозова-Водяницкая.

Н. В. Морозова-Водяницкая родилась в Харькове 23 января 1893 г. В 1915 г. она сдала государственные экзамены при Харьковском университете с дипломом первой степени и получила специальность альголога-гидробиолога.

Вся основная научная деятельность Нины Васильевны протекала на Новороссийской биологической станции, одним из организаторов которой она являлась, и Севастопольской биологической станции Академии наук СССР. В январе 1938 г. Нина Васильевна защитила докторскую диссертацию «Опыт количественного учета донной растительности в Черном море», в 1941 г. ей было присуждено ученое звание профессора по специальности «гидробиология».

Н. В. Морозовой-Водяницкой принадлежит около 50 работ по альгологии и гидробиологии, которые снискали ей широкую известность. Эти капитальные исследования освещают вопросы морфологии и систематики водорослей и их экологии. Неоценимый вклад внесен Ниной Васильевной в разработку проблемы биологической продуктивности Черного моря. Ее работы по фитобентосу и фитопланктону Черного моря по широте охваченных вопросов и глубине их разработки по праву считаются классическими, являясь монографическими в полном значении этого слова. Сейчас благодаря исследованиям Нины Васильевны имеются уже ясные представления о суточных, сезонных и годовых циклах в развитии водной растительности в прибрежных и открытых районах Черного моря.

Н. В. Морозова-Водяницкая являлась не только выдающимся ученым, но и прекрасным педагогом. Как живо, образно и глубоко научно она умела излагать различные сведения по альгологии знают не только студенты Ростовского-на-Дону университета, где она была ряд лет профессором по кафедре гидробиологии, но и научные сотрудники, приезжавшие на Новороссийскую и Севастопольскую биологические станции для работы.

Смерть застала Нину Васильевну в самом разгаре реализации ее творческих замыслов — дать монографию по растительной продуктивности Черного моря. Очень важно, чтобы все собранные ею, обработанные и подготовленные к печати материалы вышли в свет.

Прекрасной души человек, очень отзывчивая, строгая и требовательная к себе и к другим во всем, что касалось работы, тщательности и точности выполнения исследований, исключительно работоспособная, до самой смерти просиживавшая дни и ночи напролет за микроскопом или за за письменным столом,— такой осталась в нашей памяти незабвенная Нина Васильевна.

А. Е. Крисс, Н. А. Красильников, М. Н. Мейсель

БИБЛИОГРАФИЯ

ИНОСТРАННАЯ ЛИТЕРАТУРА (1952—1953 гг.)

(Продолжение, см. т. XXIV, вып. 1, 1955)

б) Биохимия и физиология

Tashiro T. Thiaminase. XVI. Properties of bacteria-thiaminase and its inactivation by organic bases. J. Japan. Biochem. Soc., 1952, vol. 23, No. 4, p. 239—244.

Taylor F. J. The oxidation of labelled acetate bybaker's yeast. New Phytol., 1952, vol. 51, No. 2, p. 256—258.

Terri A. E. and Josselyn D. Effect of excess amino acids on growth of certain lactobacilli. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 1, p. 72—73.

Thomas E. D., Hershey F. B., Abbate A. M., Loofbourow J. R. Chromatographic determination of nucleotides in the suspending medium from irradiated yeast. J. biol. Chem., 1952, vol. 196, No. 2, p. 575—582.

Thomas J. B. and Goedheer J. C. Relative efficiency of light absorbed by carotenoids in photosynthesis and phototaxis of Rhodospirillum rubrum. Biochim. Biophys. Acta, 1953, vol. 10, No. 3, p. 385—390.

Thorne C. B., Gomez C. G., Blind G. R. and Housewright R. O. Synthesis of glutamic acid and glutamyl polypeptide by Bacillus anthracis. III. Factors affecting peptide production in synthetic liquid media. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 4, p. 472—478.

Toennies G., Frank H. G. and Gallant D. L. Single system for measuring growth responses of three organisms to folacin and related factors (Bacterimetric studies. VII). Growth, 1952, vol. 16, No. 4, p. 287—295.

Toennies G. and Shockman G. D. Quantitative amino acid assimilation in homofermentative metabolism. Arch. Biochem. Biophys., 1953, vol. 45, No. 2, p. 447—458.

Topper Y. and Lipton M. M. The biosynthesis of a streptococcal capsular polysaccharide. J. biol. Chem., 1953, vol. 203, No. 1, p. 135—142.

Totter J. R. and Moseley F. T. Influence of the concentration of iron on the production of fluorescin by Pseudomonas aeruginosa. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 1, p. 45—47.

Trevelyan W. E., Forrest R. S. and Harrison J. S. Determination of yeast carbohydrates with the anthrone reagent. Nature, Lond., 1952, vol. 170, No. 4328, p. 626—627.

Tsuchida M., Hayaishi O. and Stanier R. I. The bacterial oxidation of tryptophan IV. Analysis of two blocked oxidations. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 1, p. 49—54.

Tsuchiya H. M., Jeanes A., Bricker H. M. and Wilham C. A. Dextran-degrading enzymes from molds. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 4, p. 513—519.

Tsuchiya H. M., Koepsell H. J., Corman J., Bryant G., Bogard M. O., Feger V. H. and Jackson R. W. The effect of certain cultural factors on production of dextransucrase by Leuconostoc mesenteroides. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 4, p. 521—526.

Uchida M., Sakamoto Y. and Ichihara K. The bacterial decomposition of indole. II. Studies on the enzyme system splitting the pyrrole ring of indole. Med. J. Osaka Univ., 1953, vol. 3, No. 4, p. 487—495.

Uchida M., Taketomo Y., Kakihara Y. and Ichihara K. Studies on phenol formation II. β-Tyrosinase and the role of pyridoxal in phenol formation. Med. J. Osaka Univ., 1953, vol. 3, No. 4, p. 509—519.

Umbarger H. E. Acetate exidation in a mutant strain of Escherichia coli. Federation Proc., 1953, vol. 12, part 1, No. 1, p. 282.

Umbarger H. E. The nutritional requirement of threonineless mutants of Escherichia coli. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 2, p. 203—209.

Umbarger H. E. Influence of glucose on the growth factor requirement of a mutant of Escherichia coli. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 3, p. 328—332.

Umbarger H. E. and Magasanik B. Isoleucine and valine metabolism in Escherichia coli. IV. Competitive interactions in the transamination reactions of isoleucine and valine. J. Amer. Chem. Soc., 1952, vol. 74, No. 17, p. 4256—4259.

Umbreit W. W. Respiratory cycles. J. cell. comp. Physiol., 1953, vol. 41, suppl. 1, p. 39—66.

Urbański T. i Chechelska B. Otrzymywanie ergosterolu z grzybni Aspergillus niger w skali laboratoryjnej. Prace Głownego instytutu przemysłu rolnego i spożywczego, 1952, rok 2, z. 3, p. 56—60.

Van Lanen J. M., Baldwin I. L. and Riker A. J. Attenuation of crown gall bacteria by cultivation in media containing glycine. J. Bact., 1952, vol. 63, No. 6, p. 715—722.
Van Lanen J. M., Riker A. J. and Baldwin I. L. The effect of amino acids and related compaunds upon the gromth, virulence and enzyme activity of crown gall bacteria. J. Bact., 1952, vol. 63, No. 6, p. 723—734.
Van Niel C. B. Introductory remarks on the comparative biochemistry of microorganisms J. cell. comp. Physiol., 1953, vol. 41, suppl. 1, p. 11—38.
Vas K. The effect of age of culture on the glucose fermenting ability of some yeast strains Acta chim. Acad. Sci. Hungaricae, 1951, t. 1, fasc. 1, p. 210—214.
Vendrely R. et Tulasne R. Premières observations sur la constitution chimique des formes L des bactéries. Bull Soc. Chim. Biol., Paris, 1952, t. 34, No. 7, p. 785—789.
Vendrely R. and Tulasne R. Chemical constitution of the L formes of bacteria. Nature, Lond., 1953, vol. 171, No. 4345, p. 262—263.
Verdcourt B. The effect of certain phenolic compounds of the germination and growth of microfungi Mycologia, 1952, vol. 44, No. 3, p. 377—386.
Vernon L. P. Cytochrome c content of Rhodospirillum rubrum. Arch. Biochem. Biophys., 1953, vol. 43, No. 2, p. 492—493.
Vernon L. P. and Kamen M. D. Photoautoxidation of ferrocytochrome *c* by sonic extracts of Rhodospirillum rubrum. Federation Proc., 1953, vol. 12, No. 1, part 1, p. 283—284.
Vernon L. P. and Kamen M. D. Studies on the metabolism of photosynthetic bacteria. XV. Photoautoxidation of ferrocytochrome *c* in extracts of Rhodospirillum rubrum. Arch. Biochem. Biophys., 1953, vol. 44, No. 2, p. 298—311.
Vignais P., Macheboeuf M. et Basset J. Comportement physico-chimique de l'acide ribonucléique de levure soumis ă l'action des hautes pressions. Ann. Inst. Pasteur, 1953, t. 85, No. 5, p. 629—645.
Virtanen A. I. and Alonen S. Effect of the nitrogen content of cells on fermentation by Aerobacter. Acta Chem. Scand., 1952, vol. 6, No. 5, p. 654—659.
Virtanen A. I. and Lundbom S. Inhibition by nitrous oxide of biological nitrogen fixation and the uptake of combined nitrogen. Acta Chem. Scand., 1953, vol. 7, No. 8, p. 1223—1224.
Vischer E. und Wettstein A. Mikrobiologische Reaktionen. Exper., 1953, vol. 9, fasc. 10, p. 371—372.
Vishniac W. The metabolism of Thiobacillus thioparus. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 3, p. 363—373.
Vittorio P. V., Krotkov G. and Reed G. B. Degradation of radioactive glucose. Science, 1952, vol. 115, No. 2995, p. 567—568.
Vogel H. J. Path of ornithine synthesis in Escherichia coli. Proc. Nat. Acad. Sci., Wash., 1953, vol. 39, p. 578—582.
Volk W. A. and Myrvik Q. N. An explanation for the arithmetic linear growth of mycobacteria. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 4, p. 386—388.
Volk W. A. and Pennington D. The fermentation of inositol by Propionibacterium pentosaceum. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 3, p. 347—352.
Voss E. Die Wirkung überoptimaler Konzentrationen einiger Neutralsalze auf kokkoide Bakterien. Arch. Mikrobiol., 1952, Bd. 18, H. 1, S. 101—132.
Wacker A. und Weygand F. β-Ribazol ein Hemmstoff für Lactobacillus leichmannii 313. Ztschr. Naturforsch., 1952, Bd. 7b, H. 8, S. 488—489.
Wada F. and Yamasaki K. Mechanism of microbial degradation of nicotine. Science, 1953, vol. 117, No. 3033, p. 152—153.
Wade H. E. Observations on the growth phases of Escherichia coli, american type «B». J. gen. Microbiol., 1952, vol. 7, No. 1-2, p. 18—23.
Wade H. E. Variation in the phosphorus content of Escherichia coli during cultivation. J. gen. Microbiol., 1952, vol. 7, No. 1-2, p. 24—30.
Wagenaar R. O. and Dack G. M. Some factors influencing the growth and toxin production of Clostridium botulinum experimentally inoculated into surface ripened cheese. J. Dairy Sci., 1953, vol. 36, No. 6, p. 563—564.
Wagenaar R. O. and Jezeski J. J. The influence of the type of diluent on the growth and survival of Pseudomonas putrefaciens J. Dairy Sci., 1952, vol. 35, No. 9, p. 738—754.
Wainwright S. D. An inhibitory effect of *a*-methyl-glucoside on growth and enzyme synthesis in E. coli. Biochim. Biophys. Acta, 1953, vol. 11, No. 1, p. 157—159.
Walker J. B. An enzymatic reaction between canavanine and fumarate. J. biol. Chem., 1953, vol. 204, No. 1, p. 139—146.
Walker N. and Evans W. C. Pathways in the metabolism of the monohydroxybenzoic acids by soil bacteria. Biochem. J., 1952, vol. 52, No. 4, p. XXIII—XXIV.
Walker N. and Wiltshire G. H. The breakdown of naphthalene by a soil bacterium. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 8, No. 2, p. 273—276.
Walters L. S. and Thiselton M. R. Utilization of lysine by yeasts. J. Inst. Brew., 1953, vol. 59, No. 5, p. 401—404.
Wang C. H., Christensen B. and Cheldelin V. H. Conversion of acetate and pyruvate to glutamic acid in yeast. J. biol. Chem., 1953, vol. 201, No. 2, p. 683—688.

Wang T. L. Le produit du metabolisme des Azotobacter en utilisant l'acide benzoique Acta Bot. Sinica, 1952, vol. 1, No. 2, p. 137—150.
Watson J. D. and Maaløe O. Nucleic acid transfer from parental to progeny bacteriophage. Biochim. Biophys Acta, 1953, vol. 10, No. 3, p. 432—442.
Weinberg E. D. Selective inhibition of microbial growth by the incorporation of triphenyl tetrazolium chloride in culture media. J. Bact. 1953, vol. 66, No. 2, p. 240—242.
Wessman C. E. Function of biotin in bacterial metabolism. Iowa State Coll. J. Sci., 1953, vol. 27, No. 2, p. 277.
Westphal O., Lüderitz O., Eichenberger E., Keiderling W. Über bakterielle Reizstoffe. I. Mitt.: Reindarstellung eines Polysaccharid-Pyrogens aus Bacterium coli. Ztschr. Naturforsch., 1952, Bd. 7b, H. 9/10, S. 536—548.
Westphal O., Lüderitz O. und Keiderling W. Über die Wirkungsweise bakterieller Reizstoffe. Ztbl. Bakt., Abt. 1, Orig., 1952, Bd. 158, H. 3/4, S. 152—160.
Wetter L. R. The proteolytic enzymes of microorganisms. IV. Partial purification and some properties of extracellular protease from Mortierella renispora Dixon-Stewart. Canad. J. Bot., 1952, vol. 30, No. 6, p. 685—692.
Weygand F., Wacker A. und Dellweg H. Stoffwechseluntersuchungen bei Mikroorganismen mit Hilfe radioaktiver Isotope IV. Ztschr. Naturforsch., 1952, Bd. 7b, H. 3, S. 156—160.
Wheeler G. P., Newton M. A., Morrow J. S. and Hill J. E. Effects of hydrogenation upon the microbiological activities of N^{10}-methylpteroylglutamic acid, aminopterin and *A*-methopterin. J. Amer. Chem. Soc., 1952, vol. 74, No. 18, p. 4725—4726.
White J. and Munns D. J. Irregular growth of yeasts. J. Inst. Brew., 1953, vol. 59, No. 5, p. 405—413.
Whitehead J. E. M., Morrison A. R. and Young L. Bacterial arylsulphatase. Biochem. J., 1952, vol. 51 No. 5, p. 585—594.
Wiame J. M. and Bourgeois S. Effect of citric acid on the growth of a variant of Bacillus subtilis. Nature, Lond., 1953, vol. 172, No. 4372, p. 310—311.
Wiame J. M. et Storck R. L'acide glutamique dans le métabolisme azoté de «Bacillus subtilis». Arch. Inst. Physiol., 1952, vol. 60, fasc. 2, p. 185.
Wiame J. M. et Storck R. Métabolisme de l'acide glutamique chez Bacillus subtilis. Biochim. Biophys. Acta, 1953, vol. 10, No. 2, p. 268—279.
Wiame J. H., Storck R. and Bourgeois S. The biosynthetic activity of transamination, studied with a variant of Bacillus subtilis. Biochim. Biophys. Acta, 1953, vol. 10, No. 4, p. 627—628.
Wieland O. P., Hutchings B. L. and Williams J. H. Studies on the natural occurrence of folic acid and the citrovorum factor. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 40, No. 1, p. 205—217.
Wieringa K. T. Microbiological decomposition of litter. Nature, Lond., 1953, vol. 171, No. 4357 p. 794—795.
Wijesundera S. and Woods D. D. The effect of growth on a medium containing methionine on the synthesis of this amino acid by Bacterium coli. Biochem. J., 1953, vol. 55, No. 1, p. VIII.
Wikén T. und Richard O. Biotin und *p*-Aminobenzoesäure als Wuchsstoffe für frisch isolierte Clostridium-Formen. Physiol. Plant., 1952, Bd. 5, fasc. 4, S. 510—527.
Wikén T. und Richard O. Untersuchungen über die Physiologie der Weinhefen. IV. Mitteilung. Über die Kohlendioxydproduktion der Weinhefezellen aus Kulturen verschiedenen Alters. Antonie van Leeuwenhoek, 1953, vol. 19, No. 4, p. 279—299.
Williams R. B. and Dawson R. M. C. The biosynthesis of *l*-cystine and *l*-methionine labelled with radioactive sulphur (^{35}S). Biochem. J., 1952, vol. 52, No. 2, p. 314—317.
Williams V. R. and Christman J. F. Evidence for the coenzymatic nature of a synthetic cofactor involved in the biotin related deaminase systems. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 3, p. 238—244.
Williams W. J. and Buchanan J. M. Biosynthesis of the purines. IV. The metabolism of 4-amino-5-imidazolecarboxamide in yeast. J. biol. Chem., 1953, vol. 202, No. 1, p. 253—262.
Wilson E., Stout H. A., Powelson D. and Koffler H. Comparative biochemistry of the hydrogen bacteria. I. The simultaneous oxidation of hydrogen and lactate. J. Bact., 1953, vol, 65, No. 3, p. 283—287.
Wold F. and Sirny R. J. Effect of folinic acid on serine synthesis in Leuconostoc mesenteroides P. 60. Federation Proc., 1953, vol. 12, No. 1, part 1, p. 292.
Wolin M. J., Evans J. B. and Niven C. F. The oxidation of butyric acid by Streptococcus mitis. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 4, p. 531—535.
Wollman E. L. and Stent G. S. Studies on activation of T_4 bacteriophage by cofactor. IV. Nascent activity. Biochim. Biophys. Acta. 1952, vol. 9, No. 5, p. 538—550.
Wood H. G. Fermentation of 3,4-C^{14}- and 1-C^{14}-labelled glucose by Clostridium thermoaceticum. J. biol. Chem., 1952, vol. No. 2, p. 579—584.
Wood H. G. and Leaver F. W. CO_2 turnover in the fermentation of 3, 4, 5 and 6 carbon compounds by the propionic acid bacteria. Biochim. Biophys. Acta, 1953, vol. 12, No. 1/2, p. 207—222.
Wood W. A and Schwert R. F. Alternate pathways of hexose oxidation in Pseudomonas fluorescens. J. cell. comp. Physiol., 1953, vol. 41, suppl. 1. p. 165—182.

Wood W. A. and Schwerdt R. F. Carbohydrate oxidation by Pseudomonas fluorescens. I. The mechanism of glucose and gluconate oxidation. J. biol. Chem., 1953, vol. 201, No. 2, p. 501—512.
Woods D. D. The integration of research on the nutrition and metabolism of micro-organisms. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 9, No 2, p. 151—173.
Work E. and Dewey D. L. The distribution of α, ε- diaminopimelic acid among various micro-organisms. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 9, No. 3, p. 394—409.
Wright B. E. Specific suppression by glycine of the phenotypic expression of partially reverted glycineless E. coli mutants. Nature, Lond., 1953, vol. 172, No. 4372, p. 308—309.
Wright L. D. and Cresson E. L. Isolation and characterization of diaminopimelic acid from culture filtrate of an Escherichia coli mutant. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 1953 vol. 82, No. 2, p. 354—358.
Wright L. D. and Miller C. S. Uracil in growth and pyrimidine nucleotide synthesis of Lactobacillus bulgaricus 09. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 1952, vol. 81, No. 1, p. 131—134.
Wurtz B. Accumulation d'un glucide non identifié dans les cultures d'un mutant de Streptobacterium plantarium. C. R. Acad. Sci., Paris, 1953, t. 236, No. 22, p. 2176—2177.
Wurtz B. Variation de l'activité catalasique chez un mutant de Streptobacterium plantarum. C. R. Soc. Biol., 1953, t. 147, No. 5-6, p. 478—480.
Wyatt G. R. The nucleic acids of some insect viruses. J. gen. Physiol., 1952, vol. 36, No. 2, p 201—205.
Wyatt G. R. and Cohen S. S. A new pyrimidine base from bacteriophage nucleic acids. Nature, Lond., 1952, vol. 170, No. 4338, p. 1072.
Wyatt G. R. and Cohen S. S. The bases of the deoxyribonucleic acids of T2, T4 and T6 bacteriophages. Ann. Inst. Pasteur, 1953, t. 84, No. 1, p. 143—146.
Wyatt G. R. and Cohen S. S. The bases of the nucleic acids of some bacterial and animal viruses: the occurrence of 5-hydroxy-methylcytosine. Biochem. J., 1953, vol. 55, No. 5, p. 774—782.
Yanofsky C. Effects of X-rays on the formation of lactase in a lysogenic strain and a sonsitive strain of Escherichia coli. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 4, p. 383—387.
Yoneda M. and Asano N. Competitive action of isonicotinic acid hydrazide and pyridoxal in the amino acid decarboxylation of Escherichia coli. Science, 1953, vol. 117, No. 3037, p. 277—279.
Yoneda M., Kato N. and Okajima M. Competitive action of isonicotinic acid hydrazide and vitamin B_6 in the formation of indole by E. coli. Nature, Lond., 1952, vol. 170, No. 4332, p. 803.
Zebovitz E. and Moulder J. W. Effect of carbon dioxide and aging on the dihydrostreptomycin inhibition of pyruvate fermentation in Escherichia coli. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 3, p. 344—347.
Zygmunt W. A. Microbiological activity of analogues of vitamin B_{12} by the cup plate method. J. Bact., 1952, vol. 63, No. 6, p. 821—822.

в) Методы и техника исследования

Adelberg E. A. and Meyers J. W. Modification of the penicillin technique for the selection of auxotrophic bacteria. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 3, p. 348—353.
Attz M. und Weyland H. Über die Selbstherstellung proteolysierter Nährbodengrundlagen. Ztbl. Bakt., Abt. 1. Orig., 1953, Bd. 159, H. 8, S. 537—543.
Augier J. et Pochon J. Recherche sur la préparation d'un silico-gel dialysé stérile. Ann. Inst. Pasteur 1953, t. 85, No. 5, p. 666—670.
Backus R. C. and Williams R. C. Centrifugation in field-aligning capsules: preparative microcentrifugation. Science, 1953, vol. 177, No. 3035, p. 221—223.
Balasubramian S. C. and Ramachandran M. On the microbiological assay of threonine. J. gen. Microbiol., 1952, vol. 7, No. 1-2, p. 44—47.
Banfield J. S. The use of wire mesh grids in the preparation of microcultures. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 4, p. 595.
Bartholomew J. W. and Mittwer T. The Gram stain. Bacteriol. Rev., 1952, vol. 16, No. 1, p. 1—30.
Bicknell A. K., Butt F. and Mattman L. The rapid identification of enteric organisms by microtechnique. Amer. J. Publ. Health, 1952, vol. 42, No. 4, p. 437—449.
Blondel B. Recherches sur la technique des répliques microbiennes. C. R. Soc. Biol., 1953, t. 147, No. 15-18, p. 1489—1492.
Borneff J. Versuche zur Schnellschätzung coliform Bakterien. Milchwissenschaft, 1953, Bd. 8, H. 2, S. 48—51.
Brakke M. K. Zonal separations by density-gradient centrifugation. Arch. Biochem. Biophys., 1953, vol. 45, No. 2, p. 275—290.
Braun O. H. and Margret W. Ein einfaches Nährmedium zur Züchtung von Lactobacillus bifidus und acidophilus. Ztbl. Bakt., Abt. I, Orig., 1952, Bd. 158, H. 1/2, S. 95—96.
Bresch C. Unterscheidung verschiedener Bakteriophagentypen durch Farbindikatornährböden. Ztbl. Bakt., Abt. 1, Orig., 1952, Bd. 159, H. 1/2, S. 47.

Bridges A. E., Pepper R. E. and Chandler V. L. Apparatus for large scale anaerobic cultures in an atmosphere of helium. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 1, p. 137—138.
Bruckman H. W. and Rook J. J. On the suitability of gelatin for plate cultures. I. Antonie van Leeuwenhoek, 1953, vol. 19, No. 4, p. 341—353.
Chance B., Smith L. and Castor L. New methods for the study of the carbon monoxide compounds of respiratory enzymes. Biochim. Biophys. Acta, 1953, vol. 12, No. 1/2, p. 289—298.
Chance H. L. A bacterial cell wall stain. Stain Technol., 1953, vol. 28, No. 4, p. 205—207.
Clarke P. H. Growth of streptococci in a glucose phenolphthalein broth. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 9, No. 2, p. 350—352.
Cohen A. L. Rapid and simple methods for the harvesting of mass cultures of microorganisms. Appl. Microbiol., 1953, vol. I, No. 4, p. 168—171.
Cooper K. E. and Gillespie W. A. The influence of temperature on streptomycin inhibition zones in agar cultures. J. gen. Microbiol., 1952, vol. 7, No. 1-2, p. 1—7.
Cooper K. E. and Linton A. R. The importance of the temperature during the early hours of incubation of agar plates in assays. J. gen. Microbiol., 1952, vol. 7, No. 1-2, p. 8—17.
Cowan S. T. Fermentations: biochemical micromethods for bacteriology. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 8, No. 3, p. 391—396.
Cowan S. T. Micromethod for the metyl red test. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 9, No. 1, p. 101—109.
Csobán G., Szobó S. und Vályi-Nagy T. Beitrag zur spektrofotometrischen Bestimmung des Gesamtnukleinsäuregehalts in Bakterien. Acta Physiol. Acad. Sci. Hungaricae, 1952, t. 3, suppl. S. 25.
Desbordes J., Guyotjeannin Ch. et Clément N. Procédé nouveau et rapide de coloration des Bacilles acido-alcoolorésistants par la fuchsine basique tensio-active. Bull. Assoc. Diplômes Microbiol. Fac. Pharm. Nancy. 1952, No. 48, p. 23—26.
Dietze H. J. Nachprüfung einer Modifikation der Gramfärbung (nach. G. J. Hucker) Ztbl. Bakt., Abt. 1, Orig. 1952, Bd. 158, H. 1/2, S. 110—113.
Donald C., Passey B. I. and Swaby R. J. A comparison of methods for removing trace metals from microbiological media. J. gen. Microbiol., 1952, vol. 7, No. 3-4, p. 211—220.
Dussault H. P. and Lachance R. A. Improved medium for red halophilic bacteria from salt fish. J. Fish. Res. Bd. Canada, 1952, vol. 9, No. 3, p. 157—163.
Finkelstein H. and Batholomew J. W. Quantitative determination of dye uptake by bacterial cells. Stain Technol., 1953, vol. 28, No. 4, p. 177—186.
Fischer R. and Larose P. Mechanism of gram strain reversal. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 4, p. 435—442.
Ford J. E. and Holdsworth E. S. An improved bioautographic technique. Biochem. J., 1953, vol. 53, No. 3, p. XXII—XXIII.
Fowell R. R. Sodium acetate as a sporulation medium for yeast. Nature, Lond., 1952, vol. 170, No. 4327, p. 578.
Giolitti G. and Bertani M. A method for the microscopical study of Actinomycetes. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 3, p. 281—282.
Gray P. H. H. A new method in staining bacteria on microscope slides. Nature, Lond., 1953, vol. 171, No. 4362, p. 1030.
Gross M. Rapid staining of acid-fast bacteria. Amer. J. Clin. Pathol., 1952, vol. 22, No. 10, p. 1034—1035.
Gust R. Ergebnis der Prüfung eines Pipetten-Sicherheitsaufsatzes. Ztschr. Hyg., 1953, Bd. 136, H. 1, S. 85—87.
Haddad S. A. and Lindegren C. C. A method for determining the weight of an individual yeast cell. Appl. Microbiol., 1953, vol. 1, No. 3, p. 153—156.
Harris N. K. and Powell E. O. A culture chamber for the microscopical study of living bacteria with some observations on the spore-bearing aërobes. J. Roy. Micr. Soc., 1952, vol. 71, part 4, p. 407—420.
Harstell S. E. The preservation of bacterial cultures under paraffin oil. Appl. Microbiol., 1953, vol. 1, No. 1, p. 36—41.
Heald P. J., Krogh N., Mann S. O., Appleby J., Mason F. M. and Oxford A. E. A method for direct viable counts of the facultatively anaërobic microflora in the rumen of a sheep maintained on a hay diet. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 9, No. 2, p. 207—215.
Hilson G. R. F. A simle and inexpensive microforge. J. gen. Microbiol., 1952, vol. 7, No. 1-2, p. 175—178.
Huhtanen C. N., Rogers M. B. and Gall L. S. Improved techniques for isolating and purifying rumen organisms. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 1, p. 17—23.
Humphrey J. H. and Lightbown J. W. A. general theory for plate assay of antibiotics with some practical applications. J. gen. Microbiol., 1952, vol. 7, No. 1-2, p. 129—143.
Janke A. Die Wattehaube. Ein Verschluß für Kulturgefäße zur Züchtung streng aerober Mikroorganismen. Arch. Mikrobiol., 1952, Bd. 17, H. 2, S. 155—159.

Janke A. Gargefäße für gasbildende anaerobe Organismen. Ztbl. Bakt., Abt. 1, Orig., 1953, Bd. 159, H. 6/7, S. 469—472.
Jannasch H. W. Zur Methodik der quantitativen Untersuchung von Bakterienkulturen in flüssigen Medien. Arch. Mikrobiol., 1953, Bd. 18, H. 4, S. 425—430.
Johnstone K. I. Micromanipulation on an agar surface for the isolation and cultivation of single organisms. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 9, No. 2, p. 293—304.
Kambar C. S., Reinbold G. W. and Hussong R. V. A plating method for the isolation and enumeration of propionibacteria. J. Dairy Sci., 1952, vol. 35, No. 11, p. 915—919.
Kennedy E. R. and Barbam J. F. Quantitative adsorption of crystal violet. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 6, p. 678—680.
Kethley T. W., Gordon M. T. and Orr C., Jr. A thermal precipitator for aerobacteriology. Science, 1952, vol. 116, No. 3014, p. 368.
Kligman A. M. and Lewis F. S. A method for preparing permanent stained mounts of pathogenic fungi for microscopic examination. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 2, p. 148—150.
Kuroda O. Eine neue Methode zur Färbung der säurefesten Bakterien: Theorie und Technik. Ztbl. Bakt., Abt. 1, Orig., 1953, Bd. 159, H. 8, S. 533—537.
Lack C. H. A simple hot box for microcultures. J. gen. Microbiol., 1952, vol. 7, No. 1-2, p. 144—145.
Landerkin G. B. A contrast technique for plaque counting. Canad. J. Bot., 1953, vol. 31, No. 1, p. 142.
Larose P. and Fischer R. Reversal of gram-staining behavior. Science, 1953, vol. 117, No. 3043, p. 449.
Latarjet R., Morenne P. et Berger R. Un appareil simple pour le dosage des rayonnements ultraviolets émis par les lampes germicides. Ann. Inst. Pasteur, 1953, t. 85, No. 2, p. 174—185.
Laxminarayana H. and Iya K. K. Tetrazolium bromide as a valuable tool in microbiological work. Current Sci., 1952, vol. 21, No. 5, p. 124—125.
Levine S. Staling in membrane filter cultures. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 5, p. 624—625.
Levine S., Stevenson H. J. R. and Bordner R. Identification of glycogen in whole bacterial cells by infrared spectrophotometry. Science, 1953, vol. 118, No. 3057, p. 141—142.
Levine S., Stevenson H. J. R., Chambers L. and Kenners B. A. Infrared spectrophotometry of enteric bacteria. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 1, p. 10—15.
Litsky W., Mallmann W. L. and Fifield C. W. Ethyl violet. A selective dye for isolation of gram-negative bacteria. Stain Technol., 1952, vol. 27, No. 5, p. 229—232.
Lockhart W. R. A single tube method for anaërobic incubation of bacterial cultures. Science, 1953, vol. 118, No. 3057, p. 144.
Lockhart W. R. and Powelson D. M. Staling in bacterial cultures. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 3. p. 293—296.
Lockwood J. L., Leben C. and Keitt G. W. A culture plate for agar diffusion assays. Phytopath., 1952, vol. 42, No. 8, p. 447.

ПОПРАВКА

В статье Возняковской, т. XXIV, № 1, стр. 100 состав удобрений в таблице указан неправильно

Напечатано:

«внесено 1,8 т перегноя, 7 ц суперф., 0 ц извести».

Следует читать:

«внесено 1,8 т перегноя, 3 ц суперф., 3 ц извести».

СОДЕРЖАНИЕ

С. Н. Муромцев. Задачи сельскохозяйственной микробиологии в свете решений январского Пленума ЦК КПСС «Об увеличении производства продуктов животноводства» 129

Экспериментальные статьи

Р. Д. Гальцова. Влияние рентгеновского облучения на содержание сульфгидрильных групп в дрожжевых организмах 137
К. Бахадур. Влияние изменений соотношений между углеродом и азотом на обмен у культур дхаровских дрожжей 141
А. А. Имшенецкий и К. З. Перова. Адаптация дрожжей к ядам 147
Л. Г. Логинова. Изменение активности у дрожжей в зависимости от условий существования 151
Ю. Н. Карасевич. Особенности развития складчатых вариантов дрожжей на агаризованных средах 155
В. И. Любимов. Расщепление мочевины у бактерий как внутриклеточный процесс 160
А. Л. Ерусалимский. О периодичности размножения и газообразования дрожжей в жидкой культуре 164
М. В. Федоров и А. Эрнандес. Физиологические особенности ослабленных и нетипичных культур азотобактера, выделенных из дерново-подзолистых почв 170
Б. В. Квасников и С. Т. Долгих. Значение ассимиляционного аппарата и корневой системы для восприимчивости бобового растения к клубеньковым бактериям 180
А. Я. Трибунская. Изучение микрофлоры ризосферы сеянцев сосны . . . 188
С. В. Горюнова и М. В. Насонова. Явление сезонной периодичности роста и развития у одноклеточных зеленых водорослей 193
С. А. Коновалов. Влияние антисептиков на дрожжи 199
Л. И. Комарова. Влияние внешних факторов на температурный коэффициент скорости ацетоно-бутилового брожения 208
Е. С. Татаренко, А. Е. Соболь и З. Н. Новикова. К изысканию антиокислителей биологического происхождения для предохранения жиров от прогоркания 217
С. М. Гершензон, Е. П. Якушкина и Р. М. Пухович. К вопросу о вызывании гидроксиламином желтухи у насекомых 223

Дискуссия

Л. И. Рубенчик. Некоторые спорные вопросы о роли почвенных микроорганизмов в питании растений 229

Обзоры

А. С. Разумов. Мембранные фильтры и их применение при микробиологических исследованиях воды 234

Критика

В. И. Кудрявцев.— J. Lodder and N. J. W. Kreger-van Rij. The yeasts, (A taxonomic study) 247

Хроника

А. В. Рыбалкина. Совещание по повышению плодородия почв нечерноземной зоны европейской части СССР 252
Е. Н. Мишустин. По научным учреждениям Германской Демократической Республики 254
А. Е. Крисс, Н. А. Красильников, М. Н. Мейсель.— Н. В. Морозова-Водяницкая (Некролог) 258

Библиография

Иностранная литература (1952—1953 гг.) 259

Т-00182 Подписано к печати 8.VI. 1955 г. Печ. лист. 11,64. Зак. 1037
Уч.-изд. л. 13,8. Формат бумаги 70×108 1/16. Бум. л. 4 1/4. Тираж 6000 экз.

2-я типография Издательства Академии наук СССР, Москва, Шубинский пер., 10

Цена 12 руб.